MEMÓRIAS INSTITUTO BUTANTAN

1964

VOLUME XXXI

SÃO PAULO - BRASIL
CAIXA POSTAL 65

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO BUTANTAN

1964

VOLUME XXXI

São Paulo - Brasil
Caixa Postal 65

As "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" são destinadas à publicação de trabalhos realizados no Instituto ou com a sua contribuição. Os trabalhos são dados à publicidade logo após a entrega e reunidos anualmente num volume.

Serão fornecidas, a pedido, separatas dos trabalhos publicados nas "MEMÓRIAS", solicitando-se nesse caso o obséquio de enviar outras separatas, em permuta, para a Biblioteca do Instituto.

Tôda a correspondência editorial deve ser dirigida ao:

INSTITUTO BUTANTAN
Biblioteca
Caixa Postal, 65
São Paulo, BRASIL

PEDE-SE PERMUTA
EXCHANGE DESIRED

SciELO

MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN

ÍNDICE

TOMO XXXI (Fasc. I)

1964

NECROLÓGIO

PROF. DR. FLAVIO OLIVEIRA RIBEIRO DA FONSECA (1900-1963)

Faleceu em São Paulo, Brasil, no dia 22 de maio de 1963, o Prof. Dr. Flavio Oliveira Ribeiro da Fonseca, ex-Diretor do Instituto Butantan, chefe da Secção de Parasitologia e membro do Conselho do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan. Nascido no Rio de Janeiro a 12 de outubro de 1900, radicou-se em São Paulo desde 1926.

Iniciou a carreira científica já durante o Curso de Medicina da Universidade do Brasil, especializando-se em Parasitologia, Microbiologia e Zoologia Médica, no Instituto Oswaldo Cruz em Manguinhos, Rio de Janeiro.

Formado em Medicina em 1923, trabalhou em vários laboratórios do Instituto Oswaldo Cruz e como chefe do Laboratório do Hospital José Carlos Rodrigues, do Rio de Janeiro.

Em 1925 foi designado para chefiar a Secção Médica da Comissão de Planejamento da Estrada de Ferro Transcontinental de Santos, no Brasil, a Arica, no Peru, tendo percorrido os sertões de Mato Grosso e florestas da Bolívia.

Em 1926 foi indicado para substituir o professor catedrático, na Cadeira de Microbiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, onde lecionou até 1931. Nessa data foi incluído como assistente no corpo médico do Instituto Butantan de São Paulo, de onde sòmente saiu para dirigir, por tempo limitado em 1946, o Serviço de Profilaxia da Malária de São Paulo, onde introduziu o emprêgo do DDT e antimaláricos sintéticos modernos. No Instituto Butantan trabalhou em Imunoterapia, Bacteriologia e Virulogia e, em 1937, foi designado chefe do Departamento de Parasitologia, ocupando êsse cargo até sua morte.

Por sete oportunidades diferentes foi chamado a exercer o cargo de Diretor do Instituto Butantan, coincidindo quase sempre com os momentos de maiores dificuldades para a Instituição.

O Dr. Flavio da Fonseca foi um dos fundadores da Escola Paulista de Medicina e era professor catedrático de Parasitologia desde 1933. Fazia parte do corpo docente da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo.

Era major-médico da Reserva do Exército.

Ocupou inúmeros cargos de relêvo, não só no ensino médico como na pesquisa. Ao primeiro trabalho publicado no ano de 1926 seguiram-se 130 outros de alto mérito científico, além de alguns inéditos. Cultivou a Acarologia como autodidata desde 1931. Foi o iniciador do estudo dos ácaros parasitos de vertebrados na América do Sul, sendo considerado um dos grandes acarologistas da atualidade. Deixou no Instituto Butantan, para estudos, 80.000 exemplares de ácaros, provàvelmente uma das maiores coleções do mundo. A contribuição de sua vasta experiência na especialidade era constantemente solicitada por pesquisadores de inúmeros centros científicos de todos os países. Sua biblioteca acarológica compreende cêrca de 2.000 trabalhos, enviados por especialistas de todo mundo.

Nas suas horas de lazer a distração predileta era a caça, o que muito auxiliou na obtenção de material para estudo de Parasitologia Comparada. Através a colaboração de cêrca de dois mil fornecedores de serpentes e animais silvestres de todo o sul e centro do Brasil, conseguiu organizar uma coleção parasitológica de perto de dez mil lotes.

Além dos trabalhos sôbre ácaros, publicou vários outros sôbre Protozoologia, Entomologia Médica, Riquetsioses e Vírus. Trabalhou com Henrique Aragão na revisão da fauna neotrópica de Ixodidas, publicando juntos uma dezena de trabalhos.

É de se assinalar que nos seus trabalhos sôbre Malária confirmou a hipótese da importância exercida pelos anofelinos do gênero Kerteszia na transmissão da malária nas matas e serras, o que por mais de 40 anos fôra pôsto em dúvida.

Dentre as inúmeras espécies de Protozoários por êle descritas, destaca-se o achado da segunda espécie de Plasmódio de Malária de Primatas, no continente americano.

Seus trabalhos sôbre Riquetsias e os Ixodidas transmissores da Febre Maculosa Brasileira foram básicos para o esclarecimento da infecção no Brasil e para o preparo da vacina contra a Febre Maculosa.

Foi fundador da Sociedade Brasileira de Entomatologia, do Clube Zoológico do Brasil e da Fundação do Parque Zoológico de São Paulo; membro da Sociedade Brasileira de Biologia e da Royal Society of Entomology, na Inglaterra. Era membro do Comitê Internacional da Revista de Acarologia e igualmente da revista "Ciencia" do México.

★

DR. EDUARDO VAZ (1898-1963)

Faleceu em São Paulo, Brasil, no dia 8 de maio de 1963, o Dr. Eduardo Vaz, ex-assistente e ex-diretor do Instituto Butantan.

Nascido em São Paulo a 13 de outubro de 1898, formado em Medicina em 1923, pela Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, onde foi interno da 4.ª Cadeira de Clínica Médica do Prof. Aloysio de Castro. Foi também interno no Hospital São João Batista de Niterói e do Instituto de Proteção à Infância. Foi subassistente do Instituto Vital Brazil em Niterói, sob a direção do Prof. Arlindo de Assis em 1924, fazendo nessa ocasião estudos sôbre raiva e imunidade local, assunto que serviu para a sua tese de doutoramento em 1924.

Foi assistente do Instituto Butantan de 1925 a 1928, tendo realizado trabalhos sôbre imunologia e bacteriologia. Preparou nesse período a primeira amostra de BCG em São Paulo e introduziu o emprêgo da vacinação "per os" contra as infecções tífico-disentéricas. Participou com trabalhos das Conferências de Higiene em São Paulo e em Pernambuco.

Em 1928, com os Drs. Mario Pereira e Pedro Romeiro, fundou o Instituto Pinheiros, que dirigiu por 19 anos. Nesse Instituto organizou pela primeira vez no Brasil um Serviço Antirrábico Descentralizado, que já prestou socorro a mais de 30.000 vítimas de animais raivosos na própria localidade dos pacientes, graças a remessa pronta da vacina pelos 230 postos espalhados no Brasil, Paraguai e Bolívia, em um trabalho de fundo social. Sob os auspícios do Ministério da Guerra, criou o primeiro Banco de Plasma do Brasil. Durante a Revolução Constitucionalista de 1932, organizou e dirigiu o laboratório de campanha no setor Sul do Estado de São Paulo. Organizou e dirigiu o Serviço de Vacinação BCG da Liga Paulista contra a Tuberculose, tendo edificado a sua sede, graças a colaboração do Rotary Club de São Paulo, do qual era membro.

Em 1947 foi nomeado diretor do Instituto Butantan, cargo que exerceu até 1951. Pela Organização Mundial de Saúde foi convidado a realizar estudos sôbre a Administração de Laboratórios de Saúde Pública nos Estados Unidos da América, no Canadá e em vários países da Europa. No seu regresso foi convidado pelo Ministério da Saúde Pública a colaborar na Campanha Nacional contra a Tuberculose no setor técnico e administrativo.

Publicou 40 trabalhos de investigação científica e de divulgação, principalmente nos temas de imunização antidisentérica, de BCG e raiva.

CATADISCUS ELDORADIENSIS n. sp., *TREMATODA, PARAMPHISTOMATA* DE *LEPTODACTYLUS OCELLATUS*

PAULO DE TOLEDO ARTIGAS E MARIO DEMAR PEREZ

Secção de Parasitologia, Faculdade de Farmácia e Bioquímica, Universidade de São Paulo e Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

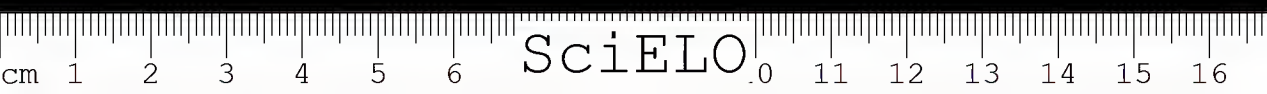
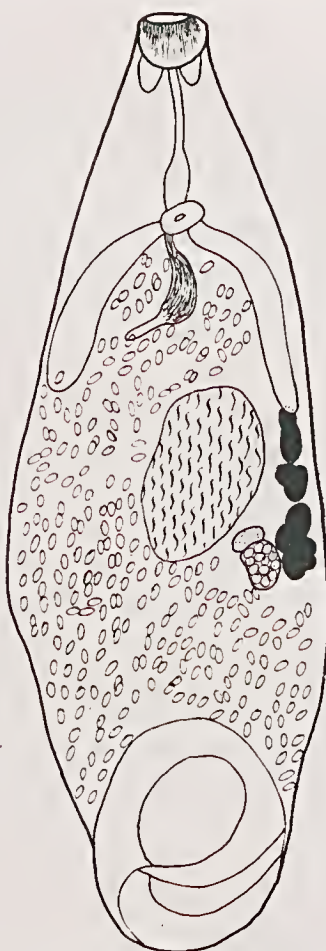
Introdução

Em dois exemplares de *Leptodactylus ocellatus*, um proveniente de São Paulo, capital do Estado e o outro de Eldorado Paulista (SP), tivemos ensejo de encontrar o trematódeo, assunto da presente nota. Em uma das verificações, o parasito em aprêço foi observado em parasitismo misto, compartilhado com *Choledocystus elegans* (Trav., 1926); na outra verificação o parasitismo era isolado.

Na necrópsia número 293, do batráquio oriundo de São Paulo, colhemos sete exemplares de *C. eldoradiensis;* na necrópsia número 346, da rã proveniente de Eldorado Paulista, obtivemos um único exemplar do trematódeo citado. O *Leptodactylus* de Eldorado Paulista foi capturado em abril de 1958 e o de São Paulo em dezembro do mesmo ano. A presente descrição é baseada no estudo dêsses oito exemplares.

Descrição

Trata-se de um trematódeo pequeno, brancacento, pouco espêsso, de cutícula lisa. Ventosa oral relativamente pequena e provida de dois divertículos. Pré-faringe delgada. Faringe pouco desenvolvida, de situação pré-cecal. Esôfago pràticamente nulo. Cecos curtos, não atingindo o plano mediano do corpo. Testículo único, volumoso, situado no plano equatorial, num campo parcialmente deslocado da linha mediana. Bôlsa do cirro bem desenvolvida. Ovário e glândula de Mehlis contíguos, situados os dois órgãos no campo testicular, em zona imediatamente posterior, colocados paramedialmente. Vitelinos em grandes massas foliculares, em número reduzido, situados na mesma zona testicular e em campo lateral, à esquerda. Poro genital disposto na zona da bifurcação dos cecos. Alças uterinas numerosas, os ovos se distribuindo em tôda a área do corpo situada entre os cecos até a extremidade posterior do corpo; ovos numerosos e operculados. Ventosa posterior potente, grande, terminal, na extremidade posterior e com uma prega ou espessamento bem observado em um dos exemplares examinados.

Recebido para publicação em junho de 1964.

Catadiscus eldoradiensis Artigas et Perez, 1964.

Discussão

Trata-se, evidentemente, de um trematódeo paramfistomídeo que apresenta as características gerais do *Catadiscus* e que poderia ser classificado como *C. cohni* Trav., 1926., não fôsse a curiosa circunstância de apresentar a massa vitelínica unilateral, aparentemente um complexo ímpar de glândulas vitelogênicas.

O fato de havermos encontrado o trematódeo em tela em dois hospedeiros, embora da mesma espécie, mas provenientes de lugares distantes (Eldorado Paulista, que ainda há poucos anos tinha a denominação de Xiririca, dista da capital do Estado cêrca de 250 quilômetros) e a circunstância dos oito exemplares possuirem morfologia nitidamente superponível, parecem-nos elementos suficientes para erigir uma nova espécie bem definida de *Catadiscus*.

No seguinte quadro relatamos as medidas de quatro helmintos, tomadas após coloração pelo carmim e montagem em bálsamo.

TABELA

	Exemplares do lote 562			Exemplar do lote 666
Comprimento	3,00 mm	2,24 mm	2,16 mm	2,50 mm
Largura máxima	1,00 mm	0,80 mm	1,04 mm	1,00 mm
Ventosa oral	180 × 250 μ	—	100 × 160 μ	—
Divertículo da ventosa oral	120 × 120 μ	100 × 100 μ	130 × 100 μ	—
Pré-faringe	250 μ	—	340 μ	—
Faringe	180 × 100 μ	200 × 180 μ	130 × 100 μ	180 × 130 μ
Cecos	800 × 100 μ 620 × 120 μ	610 × 120 μ 640 × 130 μ	690 × 160 μ 670 × 130 μ	510 × 180 μ 500 × 160 μ
Testículo	600 × 400 μ	460 × 410 μ	550 × 350 μ	350 × 220 μ
Bôlsa do cirro	420 × 120 μ	160 × 110 μ	—	—
Ovário	100 × 80 μ	—	—	200 × 140 μ
Glândula de Mehlis ...	90 × 60 μ	—	—	—
Acetábulo	750 × 630 μ	600 × 650 μ	600 × 560 μ	600 × 870 μ
Folículos vitelínicos ..	100 × 80 μ	—	—	83 × 63 μ
Ovos (média de 10) ..	74 × 30 μ	82 × 31 μ	60 × 32 μ	62 × 32 μ

A disposição dos vitelinos nas espécies do gênero *Catadiscus* não é uniforme; *C. dolichotyle, C. pygmaeus, C. uruguayensis, C. inopinatus, C. mirandai* e *C. freitaslenti* apresentam dois grupos simétricos de glândulas. *C. marinholutzi* e *C. propinquus* apresentam os vitelinos dispostos em faixa transversal. No caso vertente de *C. eldoradiensis* n. sp., os vitelinos, cuja disposição é o elemento diferencial específico, se dispõe unilateralmente.

Dados biológicos

Hospedeiro: *Leptodactylus ocellatus*

Habitat parasitário: Intestino delgado.

Proveniência: *Eldorado Paulista* (SP), antiga Xiririca (localidade tipo) e São Paulo (SP), Brasil.

O material que se utilizou no presente trabalho acha-se depositado na coleção helmintológica do Departamento de Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo, sob os números 562 e 666.

Resumo

É descrita uma nova espécie de paramfistomídeo, *Catadiscus eldoradiensis*, cujo principal característico, único no gênero, é a situação unilateral dos vitelinos. O novo trematódeo foi encontrado em dois exemplares de *Leptodactylus ocellatus*, provenientes. um de Eldorado Paulista (localidade tipo) e o outro de São Paulo (Estado de São Paulo). Brasil.

Summary

This paper describes a new species of *Catadiscus*. The name *Catadiscus eldoradiensis* is proposed for this new species. The most conspicuous differential character of *C. eldoradiensis* n. sp. consists in the unilateral situation of the vitellaria. an unknown aspect in other species of the genus. The new trematode has been found in *Leptodactylus ocellatus* captured in São Paulo (SP) and Eldorado Paulista (SP). Brasil.

Bibliografia

1. *Freitas, J. F. T.* — Novo trematódeo paramphistomídeo parasito de rã. *Catadiscus inopinatus* n. sp. *Rev. Brasil. Biol.*, **1**(2):121-123, 2 figs.. 1941.
2. *Freitas, J. F. T.* — *Catadiscus mirandai* n. sp., parasito de *Hemipipa carvalhoi*, Mr. Rib. *Rev. Brasil. Biol.*, **3**(4):411-412, 1 fig., 1943.
3. *Freitas, J. F. T. & Lent. H.* — Revisão do gênero *Catadiscus* Cohn 1904 (*Trematoda*: *Paramphistomoidea*). *Bol. Biolog.* (N.S.), **4**(2):305-315, 20 figs., 1939.
4. *Freitas, J. F. T. & Dobbin Jor., J. E.* — Novo parasito de rã — *Catadiscus propinquus* sp. n. (*Trematoda*: *Paramphistomoidea*). *Rev. Brasil. Biol.*, **16** (4):439-441, 2 figs., 1956.
5. *Ruiz, J. M.* — *Catadiscus freitaslenti* sp. n. (*Trematoda*: *Paramphistomoidea*) parasito de ofídio neotrópico; observação sôbre a presença de dois canais eferentes no gênero *Catadiscus* Cohn 1904. *Mem. Inst. Butantan*, **17**:29-34, 2 figs., 1943.
6. *Ruiz, J. M.* — Considerações sôbre o gênero *Choledocystus* Pereira e Cuocolo, 1941 (*Trematoda*. *Plagiorchiidae*). *Rev. Brasil. Biol.*, **9**(2):167-174, 10 figs., 1949.
7. *Travassos, L.* — *Catadiscus cohni*, nova espécie. Novo trematódeo de batráquio. *Sciencia Medica*, **4**(6):278-279, 1 fig., 1926.
8. *Travassos, L.* — Synopse dos *Paramphistomoidea*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **29** (1):19-178, 86 figs., 1934.

ESTRUTURAS LAMELARES EM RETICULOCITOS

A. BRUNNER JR. E A. VALLEJO-FREIRE

Serviço de Microscopia Eletrônica, Secção de Virulogia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Introdução

Recentemente têm sido evidenciadas em reticulocitos de mamíferos, algumas das estruturas comuns às demais células, como mitocôndrios (1-6) e retículo endoplasmático agranular (3-6). As ribonucleoproteínas se encontram difusas no citoplasma, o que se evidencia, após coloração pelo Giemsa, pela basofilia uniforme característica. Quando a coloração pelo Giemsa é precedida de tratamento pelo verde Jenus B, resulta uma basofilia reticulada devido à precipitação das ribonucleoproteínas e do corante em tôrno dos mitocôndrios (7). A dissolução dos mitocôndrios, retículo endoplasmático e ribonucleoproteínas, devido à perda de suas funções na síntese de hemoglobina e o aumento da concentração desta, definem o fim do processo de diferenciação da hemácia. Estas observações foram feitas em pacientes com anemia hemolítica, em cobaios e coelhos com anemia provocada por sangrias sucessivas ou por intoxicação plúmbica e em ratos intoxicados com p-dimetilamino-azobenzeno.

É o propósito desta comunicação demonstrar a existência de estruturas semelhantes às constituintes do aparelho de Golgi, em reticulocitos de cobaios com intoxicação plúmbica ou com anemia provocada por sangrias sucessivas.

Material e métodos

Uma reticulocitose em tôrno de 15% foi obtida em cobaios de 350 a 400 g de pêso, por sangrias cardíacas diárias de 4 a 5 ml durante 5 dias, sem que fôssem observados eritroblastos na circulação. Reticulocitoses superiores a 50% foram obtidas em cobaios intoxicados com acetato de chumbo em solução aquosa a 1% por injeções subcutâneas diárias de 1 ml, durante 9 dias.

Em ambos os casos o sangue foi colhido por punção cardíaca ou por corte da unha das patas (8) e fixado imediatamente com OsO_4 a 1% em tampão veronal-acetato, isotônico, de pH 7,4, durante 20 a 30 minutos. À desidratação pela

Recebido para publicação em dezembro de 1962.

série alcoólica seguiu-se a inclusão em butil-metil metacrilatos na proporção de 7:3. As trocas dos meios para a desidratação e inclusão dos glóbulos foram feitas por centrifugações a baixa rotação e decantações sucessivas. Os cortes foram obtidos num micrótomo Porter-Blum e examinados num microscópio Siemens ÜM 100 b com tensão de 60 KV e aumentos de ×7200 e ×15000.

Resultados e discussão

Os eritroblastos possuem tôdas as estruturas comuns às demais células, perdendo o núcleo na fase acidofílica com movimentos ativos executados pelo protoplasma, segundo documentações microcinematográficas feitas por Albrecht (9) e Bessis e Bricka (10). O núcleo, após sofrer deslocamentos devidos às intensas contrações, permanece ligado à célula por meio de um fino cordão citoplasmático, durante alguns minutos, libertando-se em seguida.

Uma das fases dêsse processo pode ser observada no eritroblasto da figura 1, de cobaio com intoxicação plúmbica. Chama a atenção a freqüência com que se observam alguns mitocôndrios próximos à membrana do núcleo em fase de extrusão; em eritroblastos aparentemente não em fase de extrusão nuclear, os mitocôndrios não se dispõem com essa proximidade em relação ao núcleo. A membrana nuclear não possui mais poros, possìvelmente por ter o núcleo perdido sua função. Êste fato pode ser melhor constatado nos cortes tangenciais.

A célula passa assim a constituir um reticulocito, com os elementos citoplasmáticos remanescentes e sofre progressivas transformações ao mesmo tempo que acumula crescentes quantidades de hemoglobina sintetizada. A síntese se processa mais intensamente nêste período da diferenciação, segundo determinações microespectrofotométricas feitas por Seno (4) em eritroblastos e reticulocitos de coelho. Estas alterações podem se evidenciar pela perda das várias estruturas citoplasmáticas e pelo aumento de densidade aos eletrons, transformando-se a célula numa hemácia adulta.

Foram confirmados os achados anteriores em reticulocitos de cobaios com anemia aguda provocada por sangrias sucessivas e de cobaios com intoxicação plúmbica (1-3). Além de mitocôndrios e retículo endoplasmático em fase de involução, foi possível, em alguns reticulocitos jovens, localizar sistemas de membranas com características morfológicas do sistema constituinte do aparelho de Golgi (Fig. 2). A distância entre uma membrana e outra varia, aproximadamente, entre 10 e 18 mμ. Êste sistema de membranas é muito semelhante aos dictiosomos de espermátides de "Helix aspersa" e "Lumbricus terrestris", descritos por Dalton e Felix (11). Não se observam os demais componentes do aparelho de Golgi, vesículas e vacúolos.

Na Fig. 3 a distância entre as membranas é maior, variando de 28 a 40 mμ, dispondo-se algumas vesículas junto ao sistema de membranas. Esta hemácia jovem provàvelmente se encontra numa fase de maturação em que tem início o

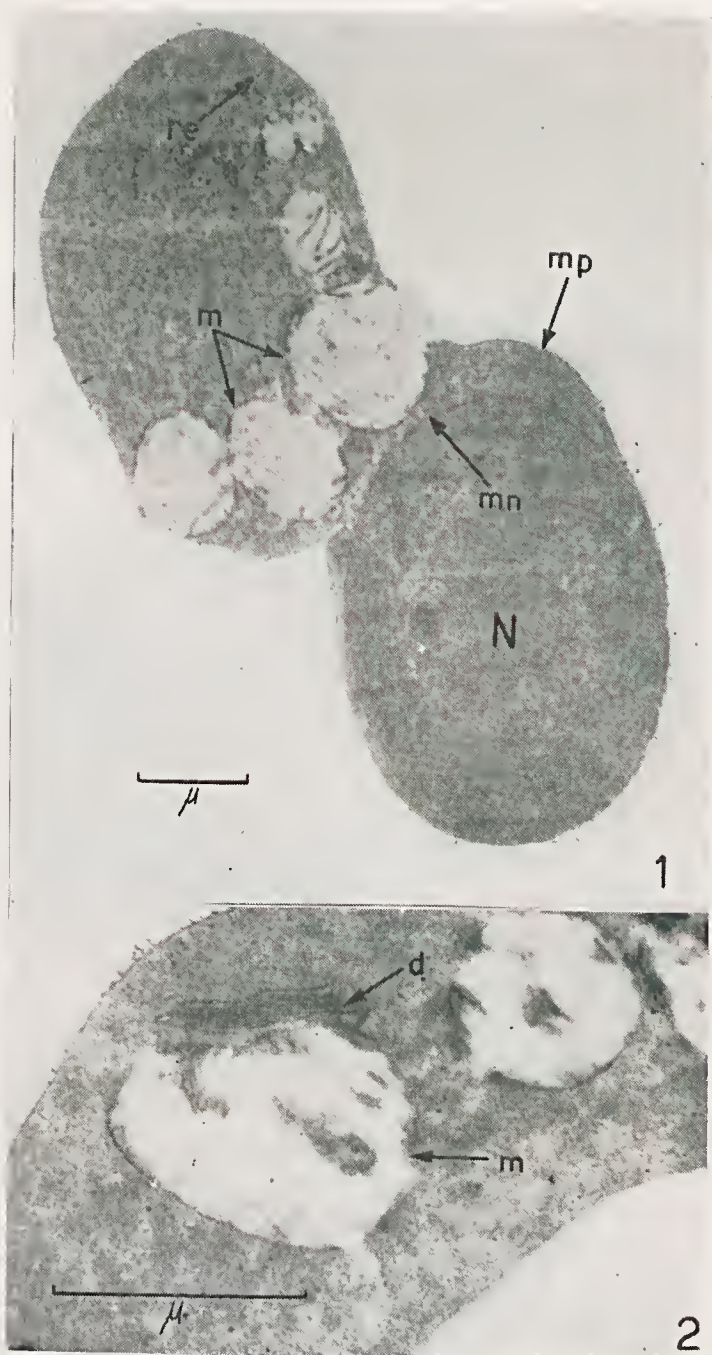



Fig. 1 — Erythroblast of guinea-pig with lead poisoning; N — nucleus in phase of extrusion; m — mitochondria; re — endoplasmic reticulum; mp — plasma membrane; mn — nuclear membrane.

Reticulocytes of guinea-pigs with lead poisoning.

Fig. 2 — Reticulocytes of guinea-pigs with lead poisoning. Dictiosome (d) disposed near a mitochondria (m) of enlarged volume and disorganized trabecular structure.

Fig. 3 — Reticulocytes of guinea-pigs with lead poisoning — d — dictiosome; v — vesicles; m — mitochondria; re — endoplasmic reticulum.

Fig. 4 — Reticulocyte of guinea-pig with anemia caused by successive bleedings, containing a system of membranes (M), vesicles (v) and a mitochondria (m); re — endoplasmic reticulum. The density to the electrons is accented due to the concentration of hemoglobin already synthetized.

Fig. 5 — Reticulocyte of guinea-pig with lead poisoning containing a structure constituted of concentric lamellae (l) of elliptic section; m — mitochondria; f — ferritine.

processo de reabsorção ou dissolução dos seus constituintes estruturais (3), como se pode observar no mitocôndrio com membrana limitante e trabéculas, incompletas.

Seno, Kawai e Nishikawa (12) verificaram que na intoxicação plúmbica o período de maturação do reticulocito é maior que o normal bem como o número de células degeneradas irrecuperáveis. Êstes dois fatôres aumentaram a probabilidade de surpreender aquelas estruturas, desde a fase de atividade até a de dissolução gradativa. Vallejo-Freire e Brunner (3) verificaram que as estruturas membranosas dêsses reticulocitos se mostravam mais contrastadas em comparação com o normal. Êste fato pode ser explicado admitindo-se ter havido uma impregnação pelo chumbo, "fixando-as", total ou parcialmente, dependendo da fase do período de intoxicação, ou seja, do maior ou menor teor de chumbo na circulação.

A observação de que a região que circunda o vacúolo contrátil de certos protozoários reduz o ácido ósmico, da mesma maneira do que ocorre com o aparelho de Golgi das células de vertebrados, levou Nassonov (13) a sugerir a existência de uma homologia entre as duas estruturas. Esta observação foi confirmada em exames eletromicroscópicos de protozoários e espongiários, por Gatenby, Dalton e Felix (14). A homologia aparente entre estas estruturas implica na participação do aparelho de Golgi no contrôle do equilíbrio osmótico das células. A concentração de sódio, potássio, cálcio e fósforo nos reticulocitos é maior do que nas hemácias adultas (15-17) e o teor em água é de cêrca de 5% maior que o dos eritrocitos (18, 19). Durante o processo de maturação aquêles solutos diminuem portanto, em concentração, do que resulta a necessidade de perda de água da hemácia para manter o equilíbrio osmótico em relação ao plasma. Pode-se conjecturar sôbre a possibilidade das estruturas descritas no reticulocito possuirem uma função ativa nêsse sentido. No reticulócito da Fig. 4, de cobaio com anemia provocada por sangrias sucessivas, o espaço entre as membranas do sistema de Golgi varia ao redor de 120 mμ, observando-se algumas vesículas próximas ao sistema. O fato dêsse reticulocito conter ainda remanescentes do aparelho de Golgi, embora já apresente uma elevada densidade aos eletrons, devido ao conteúdo em hemoglobina, sugere que êste sistema de membranas tem uma função ainda na fase anucleada, pré-adulta. Os "corpos nucleares" descritos por Golgi (20) em hemácias adultas, humanas e de outros animais, não correspondem a estas estruturas que existem sòmente nas hemácias jovens, ainda em fase de diferenciação; o glóbulo vermelho maturo não possui no seu interior nenhuma estrutura corpuscular.

Estruturas lamelares reticulares, concêntricas e espiraladas têm sido descritas em mielocitos basófilos (21), epitélio do tubo contornado proximal de camundongos (22) e células L-60 em culturas de tecido (25) e em epitélio branquial de salamandra (24), respectivamente. A função dessas estruturas não é conhecida. A estrutura lamelar do reticulocito da Fig. 5, assemelha-se às lamelares concêntricas descritas. As lamelas se dispõem de modo a dar uma secção elíptica ao conjunto, tendo as mais periféricas se destacado num dos polos da elipse, ou as internas sofrido uma retração.

Resumo

Em reticulocitos de cobaios normais ou com intoxicação plúmbica, são descritas estruturas lamelares semelhantes aos dictiosomos constituintes do aparelho de Golgi. Uma estrutura lamelar concêntrica, descrita em vários tipos de células, de função desconhecida, é também apresentada.

Trabalho executado com o auxílio do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.

Summary

In reticulocytes of normal guinea-pigs or with lead poisoning, lamellar structures similar to the dictiosomes which constitute the Golgi apparatus, are described. A concentric lamellar structure of unknown function, described in several kinds of cells, is also presented.

Bibliografia

1. *Brunner Jr., A., Vallejo-Freire, A.* and *Souza Santos, P.* — *Experientia*, **12**:255, 1956.
2. *Braunsteiner, H., Fellinger, K.,* und *Pakesch, F.* — *Acta Haemat.*, **16**:322-328, 1956.
3. *Vallejo-Freire, A.* e *Brunner Jr., A.* — *Mem. Inst. Butantan*, **28**:245-266, 1957/58.
4. *Seno, S.* — *Acta Haemat. Japon.*, **21**:351-361, 1958.
5. *Seno, S., Yoshizawa, K., Nakamoto, T.* and *Kanda, S.* — *Folia Haemat.*, **2**:269-279, 1958.
6. *Wainrach, S.* — *Anales Fac. Med.*, **44**:488-492, 1959.
7. *Brunner Jr., A.* — *Mem. Inst. Butantan* (no prelo).
8. *Vallejo-Freire, A.* — *Science*, **114**:524-525, 1951.
9. *Albrecht, M.* — *Acta Haemat.*, **6**:83-91, 1951.
10. *Bessis, M.* et *Bricka, M.* — *Rev. Hemat.*, **7**:497-535, 1952.
11. *Dalton, A. J.* and *Felix, M. D.* — *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, Suppl., 2:79-84, 1956.
12. *Seno, S., Kawai, K.* and *Nishikawa, K.* — *Mie Medical J.*, Suppl. 1, **4**:19-34, 1953.
13. *Nassonov, D. N.* — Citado por A. J. Dalton *in The Cell*, vol. II, p. 605, 1961.
14. *Catenby, J. B., Dalton, A. J.* and *Felix, M. D.* — *Nature*, **176**:301-302, 1955.
15. *Kay, H. D.* — *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **11**:148-152, 1930.
16. *Rapoport, S., Guest, G. M.* and *Wing, M.* — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **57**:344-347, 1944.
17. *Kruszynski, J.* — *Acta anat.*, **24**:164-171, 1955.
18. *Gaffney, M.* — *Brit. J. Haemat.*, **3**:311-319, 1957.
19. *Lowenstein, L. M.* — Tese de doutoramento citada em *Intern. Rev. Cytol.*, vol. VIII, p. 149, 1959.
20. *Golgi, C.* — *Haematologica*, **1**:1-16, 1920.
21. *Pease, D. C.* — *Blood*, **11**:501-526, 1956.
22. *Clark, S. L.* — *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, **3**:349-362, 1957.
23. *Dales, S.* and *Siminovitch, L.* — *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **10**:475-504, 1961.
24. *Schultz, H.* und *de Paola, S. D.* — Citado com documentação original por H. Kurozumi *in Intern. Rev. Cytol.*, vol. XI, p. 32 e 33, 1961.

LOXOSCELES E LOXOSCELISMO NA AMÉRICA DO SUL

V. AS ESPÉCIES SUL-AMERICANAS DO GÊNERO *LOXOSCELES* HEINECKEN E LOWE 1832 *

WOLFGANG BÜCHERL

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Simon (1) foi o primeiro a elaborar uma chave sistemática dos *Loxoscelídeos* sul e centro-americanos, conhecidos até o ano de 1907. O grande mérito desta chave consiste na importância que o autor deu aos palpos maxilares, ao bulbo e êmbolo dos machos adultos, para a diferenciação das espécies; o grande defeito é que foram menosprezadas por êle as fêmeas das mesmas espécies, não coordenadas sistemàticamente e que não foi dada importância alguma às medidas das pernas de ambos os sexos.

A tentativa de uma segunda chave sinóptica das espécies sul-americanas, feita por C. de Mello-Leitão (2), em 1918, resultou em fracasso. Uma nova sistematização, publicada pelo mesmo autor (3), em 1934, repetiu o bom critério dos palpos dos machos, introduzido por Simon, aliado a ilustrações, feitas dos perfís dos palpos, que elucidam melhor as figuras que Simon fizera sob outro ângulo; os caracteres específicos para as fêmeas, julgados bons por Mello-Leitão, entretanto, são destituídos de valor.

Em 1958 foi publicado por W. J. Gertsch (4) um estudo sôbre os *Loxoscelídeos* da América do Norte, Central e das Índias Ocidentais, com a aferição de 15 espécies, 3 das quais sul-americanas também e 10 descritas como novas.

O principal valor dêste trabalho consiste no estudo comparativo dos receptáculos seminais das fêmeas, como importante caráter auxiliar na especificação das mesmas. Além disso, foram comparados também os palpos maxilares dos machos, como segundo caráter importante de especificação. Finalmente ofereceu o autor as medidas exatas dos artículos das pernas de machos e fêmeas e o colorido. Não se trata pròpriamente de uma revisão das espécies do gênero, mas antes de mais nada da descrição de 10 espécies novas e mais 3 espécies, descritas alguns anos antes pelo mesmo autor em colaboração com Mulaik (5), tendo sobrado apenas

---

* Apresentado no Congresso de Zoologia em São Paulo, em julho de 1962.

Recebido para publicação em 8/6/1962.

2 espécies antigas. A elaboração de uma chave sinóptica das espécies norte e centro-americanas será tarefa extremamente difícil, senão impossível, pois Gertsch não deu importância alguma à fórmula das pernas, que considera de valor apenas para áreas restritas; as excelentes ilustrações dos palpos dos machos demonstram claramente que foram feitas muitas espécies novas, que merecem no máximo apenas o valor de populações da mesma espécie; os receptáculos seminais das fêmeas, como foram ilustrados, parecem-nos em parte incompletos e por outra parte cheios de pequenos detalhes individuais, que jamais podem justificar espécies, mas apenas populações.

Pelos nossos estudos comparativos, feitos durante 2 anos e com abundante material, procedente de muitos lugares da América do Sul, chegamos à conclusão que existem caracteres morfológicos, realmente aproveitáveis para a sistematização das espécies e que, portanto, é possível elaborar-se uma chave sistemática razoàvelmente prática para as mesmas, abrangendo-se tanto os machos como as fêmeas.

Os caracteres específicos são os seguintes:

a) As dimensões dos artículos dos palpos dos machos, incluindo o bulbo e o êmbolo;

b) O aspecto da fenda genital e dos receptáculos seminais das fêmeas;

c) As medidas das pernas em machos, fêmeas e filhotes;

d) Certas particularidades de colorido, principalmente no cefalotórax, nos artículos dos palpos e das pernas anteriores.

Êstes quatro caracteres unidos e aferidos cuidadosamente, identificam qualquer Loxoscelídeo adulto e são tanto mais seguros, quanto maior fôr o número de exemplares comparados.

Material

Para a revisão sistemática das espécies sul-americanas vimos *Loxoscelídeos* conservados no Museu Nacional do Rio de Janeiro, no Departamento de Zoologia, Ipiranga, São Paulo e na Coleção do Instituto Butantan.

Os exemplares mais antigos destas 3 coleções, mais ou menos até o ano de 1934, já tinham sido estudados por Cândido de Mello-Leitão, de maneira que nos pudemos inteirar dos critérios que êste autor usava para a sistematização.

Entramos em contato com o Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", com o Departamento de Zoologia da Universidade de Montevidéo, Uruguai, com o Instituto Malbran, em Buenos Aires, Argentina, com o Departamento de Pasitologia da Universidade da Santiago do Chile, com o Dr. Jean Vellard, da Universidade de San Marcos, em Lima, Perú, com alguns coleciona-

dores na Bolívia (Santa Cruz de la Sierra, Sucre e La Paz) e recebemos a literatura descritiva original de algumas espécies, como também abundante material comparativo. Empreendemos várias dezenas de excursões para captura, ao redor da Capital de São Paulo, ao Litoral Paulista, Rio de Janeiro, conseguindo centenas de exemplares. No Instituto Butantan encontram-se conservados os seguintes espécimes, com os seguintes números da Coleção, a procedência, data da captura e sexo:

266 — Riacho da Cruz, Minas — 3/ 5/1935 — 1 fêmea;
267 — Ourinhos, São Paulo — 12/ 9/1934 — 1 fêmea;
268 — São Simão, Rio Grande do Sul — 12/ 7/1934 — 1 fêmea; 1 macho, 1 filhote;
269 — São Paulo, Capital — 9/ 8/1935 — 1 macho; 1 filhote;
270 — Francisco Sodré — 18/ 9/1934 — 1 filhote;
271 — Inst. Butantan — 20/ 9/1937 — 1 macho;
272 — Cerqueira César, São Paulo — 11/11/1936 — 1 fêmea, 1 macho; 1 filhote;
276 — Lagoa, Santa Catarina — 11/ 2/1935 — 1 fêmea, 1 fêmea;
277 — São Carlos, São Paulo — 1934 — 1 fêmea, 1 macho;
278 — Corumbataí, São Paulo — 18/ 9/1935 — 1 filhote;
279 — São Paulo, Capital — 22/ 5/1935 — 1 fêmea;
280 — Corumbataí, São Paulo — 18/ 9/1935 — 1 filhote;
281 — Lagoa, Santa Catarina — 13/ 9/1935 — 1 fêmea;
282 — Barcelos, Rio de Janeiro — 16/ 6/1936 — 2 fêmeas;
428 — Capital, São Paulo, Casa Verde — 14/11/1950 — 1 filhote;
593 — Montevidéo, Uruguai — 24/10/1951 — 2 fêmeas;
628 — Montevidéo, Uruguai — 11/12/1951 — 12 fêmeas; 11 machos; 15 filhotes;
630 — Santo Ângelo, Rio Grande do Sul — 26/12/1951 — 1 fêmea; 1 macho; 3 filhotes;
631 — Montevidéo, Uruguai — 27/12/1951 — 7 fêmeas; 3 machos; 12 filhotes;
1.232 — Quilombo, Rio Grande do Sul — 5/ 9/1952 — 1 fêmea; 1 macho; 1 filhote;
1.308 — Montevidéo, Uruguai — 23/ 7/1956 — 10 fêmeas; 7 machos; 24 filhotes;
1.469 — Cotia, São Paulo — 9/11/1959 — 1 fêmea;
1.475 — São Paulo, Capital, centro — 9/12/1959 — 1 macho;
1.477 — Inst. Butantan — 16/ 1/1960 — 1 macho;
1.498 — São Paulo, Capital, Morumbi — 3/ 3/1960 — 240 fêmeas; 120 machos; 320 filhotes;
1.495 — Inst. Butantan — 5/ 3/1960 — 1 fêmea;
1.504 — São Paulo, Capital, Morumbi — 23/ 3/1960 — 322 fêmeas; 115 machos; 275 filhotes;
1.506 — Viña del Mar, Chile — 12/ 5/1959 — 1 fêmea; 1 macho; 1 filhote;
1.509 — Montevidéo, Uruguai — 2/ 4/1960 — 14 fêmeas; 8 machos; 8 filhotes;
1.511 — São Paulo, Capital, Morumbi — 29/ 3/1960 — 124 fêmeas; 73 machos; 111 filhotes;
1.518 — São Paulo, Capital, Morumbi — 5/ 4/1960 — 73 fêmeas; 35 machos; 110 filhotes;
1.529 — Inst. Butantan — 22/ 4/1960 — 46 fêmeas; 14 machos; 80 filhotes;
1.530 — Caxingui, São Paulo — 23/ 4/1960 — 14 fêmeas; 8 machos;
1.534 — São Roque, São Paulo — 30/ 4/1960 — 56 fêmeas; 17 machos; 141 filhotes;
1.535 — São Paulo, Capital — 2/ 5/1960 — 1 fêmea;
1.544 — Caxingui, São Paulo — 17/ 5/1960 — 38 fêmeas; 14 machos; 35 filhotes;
1.556 — São Paulo, Capital — 9/ 6/1960 — 2 fêmeas;
1.557 — Inst. Butantan — 9/ 6/1960 — 48 fêmeas; 25 machos; 40 filhotes;
1.558 — São Paulo, Capital, centro — 11/ 6/1960 — 4 fêmeas; 8 machos;
1.560 — São Paulo, Capital, Pedreira — 14/ 6/1960 — 28 fêmeas; 17 machos;

1.564 —	Inst. Butantan (sob bambu)	— 30/ 5/1960 —	1900 fêmeas; 1300 machos; 2000 filhotes;
1.567 —	La Serena, Chile	— 8/ 3/1950 —	2 fêmeas; 3 filhotes;
1.567 —	Santiago do Chile	— 8/ 6/1960 —	3 fêmeas;
1.567 —	Santiago do Chile	— 8/ 6/1960 —	3 machos;
1.568 —	Santiago do Chile	— 11/ 7/1960 —	2 machos; 1 filhote;
1.568 —	La Serena, Chile	— 7/ 2/1950 —	1 macho;
1.568 —	Santiago do Chile	— 8/ 6/1960 —	3 fêmeas; 1 macho; 1 filhote;
1.569 —	Atibaia, São Paulo	— 30/ 6/1960 —	1 macho;
1.576 —	Santo André, São Paulo	— 25/ 7/1960 —	1 filhote;
1.579 —	Inst. Butantan	— 28/ 7/1960 —	4 fêmeas; 6 machos; 3 filhotes;
1.582 —	Taipas, São Paulo	— 9/ 8/1960 —	3000 fêmeas; 1000 machos; 800 filhotes;
1.583 —	Taipas (outro local)	— 13/ 8/1960 —	3000 fêmeas; 1500 machos; 1300 filhotes;
1.584 —	Viña del Mar, Chile	— 18/ 8/1960 —	1 fêmea;
1.585 —	Coquimbo, Chile	— 11/ 8/1960 —	4 fêmeas;
1.585 —	Santiago do Chile	— 11/ 8/1960 —	2 fêmeas;
1.586 —	Tarapacá, Chile	— 11/ 8/1960 —	2 fêmeas; 1 macho; 2 filhotes;
1.589 —	Taipas (3º local)	— 23/ 8/1960 —	220 fêmeas; 95 machos; 40 filhotes;
1.590 —	Taipas (4º local)	— 25/ 8/1960 —	140 fêmeas; 80 machos;
1.591 —	Inst. Butantan	— 26/ 8/1961 —	1000 fêmeas; 340 machos; 750 filhotes;
1.593 —	Taipas (5º local)	— 30/ 8/1961 —	120 fêmeas; 51 machos; 112 filhotes;
1.595 —	Belo Horizonte, centro	— 2/ 9/1960 —	1 macho; 1 filhote;
1.610 —	Planaltina, Goiás	— 16/ 7/1960 —	1 fêmea; 2 filhotes;
1.612 —	San Bartolo, Peru	— 10/10/1960 —	5 fêmeas; 5 machos;
1.615 —	São Paulo, Capital, centro	— 9/11/1960 —	1 macho;
1.621 —	Interlagos, São Paulo	— 22/ 1/1961 —	1 fêmea;
1.625 —	São Paulo, Capital, centro	— 1/ 2/1960 —	1 fêmea;
1.649 —	Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul	— 17/ 2/1961 —	12 fêmeas; 6 machos; 8 filhotes;
1.651 —	Inst. Butantan (bambu)	— 20/ 4/1961 —	8 fêmeas; 4 machos; 22 filhotes;
1.651 —	Inst. Butantan (bambu)	— 30/ 5/1961 —	38 fêmeas; 25 machos; 12 filhotes;
1.658 —	Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul	— 6/ 6/1961 —	4 fêmeas; 6 machos; 3 filhotes;
1.670 —	Valinhos, São Paulo	— 14/ 6/1961 —	18 fêmeas; 8 machos; 7 filhotes;
1.678 —	Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul	— 17/ 6/1961 —	3 fêmeas; 4 machos; 25 filhotes;
1.686 —	Buenos Aires, Argentina	— 6/ 7/1961 —	2 fêmeas; 1 macho;
1.687 —	Sucre, La Paz, Bolívia	— 6/ 7/1961 —	2 fêmeas; 2 machos;
1.689 —	Butantan, Hospital	— 18/ 7/1961 —	1 fêmea;
1.693 —	Taipas (6º local)	— 3/ 8/1961 —	8 fêmeas; 3 machos; muitos filhotes;
1.694 —	Caxingui, São Paulo	— 9/ 8/1961 —	2 fêmeas; 1 macho;
1.701 —	Ribeirão Prêto, São Paulo	— 22/ 8/1961 —	5 filhotes;
1.714 —	Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul	— 23/ 9/1961 —	6 fêmeas; 5 machos;
1.717 —	Butantan (Hospital)	— 22/10/1961 —	1 fêmea;
1.742 —	São Paulo, Capital	— 13/ 3/1962 —	2000 fêmeas; 800 machos; centenas de filhotes;
1.746 —	São Roque, São Paulo	— 21/ 3/1962 —	600 fêmeas; 300 machos; centenas de filhotes;
1.759 —	Iguape, São Paulo, litoral	— 25/ 4/1962 —	3 fêmeas; 3 machos; 8 filhotes.

As remessas espontâneas por fornecedores e as excursões para capturas continuam. A maioria dos exemplares é usada para a feitura do sôro anti-loxoscélico polivalente, conservando-se, entretanto, de cada lote um certo número de exemplares.

Método

O colorido dos espécimens foi aferido em várias dezenas de exemplares. Para a obtenção de medidas, as mais exatas possíveis, desarticulamos as pernas de exemplares conservados em meio alcoólico e medimos artículo por artículo, com o auxílio da lupa, tendo o cuidado de aplicar o mesmo método de medições a tôdas as aranhas, pois uma ligeira alteração de posição de um artículo já pode modificar as medidas que devem ser exatas pelo menos até meio milímetro.

O mesmo cuidado foi dispensado às medições dos artículos dos palpos do macho, do bulbo e êmbolo. Particular atenção merecem as tíbias, os tarsos e a curvatura do êmbolo, que foram ilustrados de perfil, com vista dorsal, apical e ventral, pois constituem elemento decisivo para a diferenciação segura, específica, dos machos.

A exposição dos receptáculos seminais das fêmeas foi praticada sob a lupa binocular, com 10 a 20 vêzes de aumento, tanto em material recente como conservado em meio alcoólico. Após cuidadosa incisão lateral, destacou-se tôda a região genital, inclusive a fenda transversal; em seguida retirou-se a cobertura dos pelinhos e foi destacada a pele externa (com a peça submersa em álcool a 80%); depois afastavam-se as camadas musculares e os epitélios, de maneira que se tinha, ao fim da operação, apenas os dois receptáculos, juntamente com as arcadas quitinosas que sustentam a fenda genital (quando elas existem), que podiam ser estudados tanto pelo lado de cima como pelo de baixo, de perfil ou levantados, tomando-se ao mesmo tempo suas medidas exatas e reproduzindo seu aspecto por ilustrações ampliadas.

Cento e trinta exemplares, machos, fêmeas e filhotes, de cada lote, cujo número de coleção foi dado anteriormente, juntamente com a procedência, a data da captura e o sexo, foram estudados conforme os detalhes enumerados neste capítulo. Além disto, conferimos em cada exemplar as dimensões dos olhos, suas distâncias (entre si, da fronte, da linha mediana, da margem lateral), a pilosidade do corpo, das pernas (se existe ou não o que Mello-Leitão chamou de "escópulas" e se estas se localizam em áreas determinadas ou não), a dentição das garras e os comprimentos das fiandeiras.

Resultados

a) Fórmulas das pernas ambulatórias: — *"Espécie A"* (fig. 1)

Machos

Nº 269:	I	II	III	IV
fêmur	7,40 mm	8,50 mm	7,00 mm	7,60 mm
patela	1,5	1,70	1,50	1,50
tibia	8,7	10,90	7,40	8,20
metatarso	8,00	13,50	8,00	8,50
tarso	1,90	2,00	1,30	1,50
Total	27,50	36,60	25,20	27,30

Fórmula — 2, 1 = 4, 3

Palpo:		
fêmur	2,00 mm compr.	0,50 mm largo
patela	0,60	0,50
tibia	1,00	0,85
tarso	0,85	0,65
bulbo	0,50	0,50
êmbolo	1,10	serpentiniforme
Total	4,45 mm (não se computam bulbo e êmbolo)	

Nº 428	I	II	III	IV
fêmur	7,20 mm	8,30 mm	6,80 mm	7,40 mm
patela	1,40	1,60	1,40	1,40
tibia	8,50	10,70	7,20	8,00
metatarso	7,80	13,20	7,80	8,30
tarso	1,80	1,90	1,30	1,50
Total	26,70 mm	35,70 mm	24,50 mm	26,60 mm

Fórmula — 2, 1 = 4, 3

Palpo:		
fêmur	1,90 mm compr.	0,45 mm largo
patela	0,40	0,40
tibia	0,80	0,65
tarso	0,85	0,50
bulbo	0,60	0,55
êmbolo	1,20	serpentiniforme
Total	3,90 mm	

Nº 1477	I	II	III	IV
fêmur	6,70 mm	8,00 mm	6,20 mm	7,00 mm
patela	1,20	1,20	1,20	1,20
tibia	7,70	9,20	5,70	6,90
metatarso	8,20	11,60	7,20	8,60
tarso	1,70	1,60	1,10	1,20
Total	25,50 mm	31,60 mm	21,40 mm	24,90 mm

Fórmula — 2, 1 ± 4, 3

Palpo:		
fêmur	2,00 mm compr.	0,50 mm larg.
patela	0,55	0,50
tibia	0,80	0,75
tarso	0,90	0,65
bulbo	0,55	0,55
êmbolo	1,20	serpentiniforme
Total	4,25 mm	

Nº 1511 — Pernas: Palpo:

fêmur	5,70	6,90	5,70	6,20		1,80 × 0,40
patela	1,20	1,30	1,20	1,20		0,35 × 0,40
tíbia	6,50	7,90	5,00	6,00		0,80 × 0,70
metatarso	7,30	9,40	6,40	7,20		0,80 × 0,60
tarso	1,20	1,70	1,20	1,30		0,50 × 0,50
						1,30 serpentiniforme
Total	21,90	27,20	19,50	21,90 mm		

Fórmula — 2, 1 = 4, 3

Nº 1511 — Pernas: Palpo:

fêmur	6,70	8,00	6,30	6,70		1,90 × 0,42 mm
patela	1,40	1,40	1,20	1,30		0,45 × 0,40
tarso	7,50	9,10	5,70	6,90		0,83 × 0,72
metatarso	8,10	11,40	7,20	8,30		—
tarso	1,40	1,80	1,10	1,40		0,80 × 0,62
					bulbo	0,50 × 0,50
Total	25,10	31,70	21,50	24,60 mm	êmbolo	1,35 serpentiniforme

Fórmula — 2, 1, 4, 3

Nº 1511 — Pernas: Palpo:

fêmur	6,20	7,00	5,70	6,40		1,80 × 0,40 mm
patela	1,30	1,40	1,10	1,30		0,43 × 0,39
tíbia	7,20	8,10	5,10	6,10		0,81 × 0,70
metatarso	7,60	9,90	5,50	7,80		—
tarso	1,40	1,30	1,10	1,40		0,75 × 0,59
					bulbo	0,45 × 0,45
Total	23,70	27,70	18,50	23,00 mm	êmbolo	1,10 serpentiniforme

Fórmula — 2, 1, 4, 3

Nº 1535 — Pernas: Palpo:

fêmur	5,80	6,90	5,60	6,00		1,70 × 0,36 mm
patela	1,20	1,20	1,10	1,20		0,40 × 0,39
tíbia	6,50	7,70	4,90	6,00		0,75 × 0,70
metatarso	7,20	10,00	6,50	7,10		—
tarso	1,40	1,40	1,00	1,40		0,70 × 0,55
					bulbo	0,40 × 0,40
Total	22,10	27,20	19,10	21,70 mm	êmbolo	0,90 serpentiniforme

Fórmula — 2, 1 = 4, 3

Nº 1535 — Pernas: Palpo:

fêmur	6,00	7,20	5,90	6,50		1,80 × 0,40 mm
patela	1,20	1,30	1,10	1,10		0,45 × 0,40
tíbia	7,00	8,20	5,20	6,10		0,82 × 0,70
metatarso	7,50	10,10	6,50	7,50		—
tarso	1,50	1,50	1,40	1,20		0,74 × 0,58
					bulbo	0,40 × 0,40
Total	23,20	28,30	20,10	22,40 mm	êmbolo	1,15 serpentiniforme

Fórmula — 2, 1, 4, 3

Nº 1535 — Pernas: / Palpo:

fêmur	6,00	7,20	5,80	6,10		1,77 × 0,40 mm
patela	1,20	1,30	1,00	1,00		0,45 × 0,36
tibia	6,90	8,20	5,30	6,20		0,82 × 0,74
metatarso	7,70	10,20	6,40	7,90		—
tarso	1,50	1,50	1,30	1,20		0,70 × 0,56
					bulbo	0,40 × 0,40
Total	23,30	28,40	19,80	22,40 mm	êmbolo	1,15 serpentiniforme

Fórmula — 2, 1, 4, 3

Nº 1569 — Pernas: / Palpos:

fêmur	6,80	8,10	6,50	7,30		1,90 × 0,45 mm
patela	1,30	1,30	1,30	1,40		0,60 × 0,50
tibia	7,90	10,00	6,00	7,00		0,90 × 0,80
metatarso	8,30	12,00	7,10	8,30		—
tarso	1,70	1,80	1,20	1,30		0,90 × 0,60
					bulbo	0,50 × 0,40
Total	26,00	32,20	22,10	25,30 mm	êmbolo	1,40 serpentiniforme

Fórmula — 2, 1, 4, 3

Médias aritméticas:

a) dos comprimentos das pernas: 24,50 mm — 30,73 mm — 22,17 mm — 24,01 mm

b) dos artículos dos palpos (comprimento e largura):

fêmur	— 1,86 × 0,43 mm
patela	— 0,47 × 0,40 mm
tibia	— 0,83 × 0,73 mm
tarso	— 0,80 × 0,60 mm
êmbolo	— 1,17 mm — serpentiniforme

Fêmeas (fig. 4)

Nº 266 — Comprimento das pernas: / Nº 1469 (filhote):

fêmur	7,20	8,10	6,50	7,20 mm	6,00	6,20	5,30	6,00 mm
patela	1,00	1,10	1,00	1,00	1,50	1,60	1,30	1,40
tibia	7,90	9,00	5,80	7,10	6,00	6,40	4,60	5,80
metatarso	7,50	9,00	7,00	8,40	6,30	6,50	5,50	6,50
tarso	1,90	1,60	1,40	1,60	1,40	1,50	1,10	1,30
Total	25,5	28,8	21,7	25,30 mm	21,20	22,20	17,80	21,00 mm

Fórmula — 2, 1 = 4, 3 / 2, 1 = 4, 3

Nº 1498 (filhote): / Nº 1498:

fêmur	6,30	7,00	5,80	6,20 mm	6,90	.7,40	5,80	6,50 mm
patela	1,50	1,40	1,40	1,40	1,60	1,70	1,60	1,40
tibia	6,30	7,00	5,00	6,00	6,80	6,00	4,90	6,00
metatarso	6,30	7,00	5,80	6,60	6,40	5,80	5,10	6,80
tarso	1,50	1,20	1,10	1,40	1,30	1,50	1,50	1,50
Total	21,9	23,6	19,1	21,60 mm	22,00	22,40	18,90	21,20 mm

Fórmula — 2, 1 = 4, 3 / 2, 1, 4, 3

Nº 1498 (filhote): / Nº 1504:

	Nº 1498				Nº 1504			
fêmur	6,20	5,80	5,00	5,60 mm	7,40	7,70	6,60	7,30 mm
patela	1,30	1,30	1,20	1,20	1,70	1,90	1,70	1,70
tibia	5,50	5,80	4,20	5,10	7,20	7,80	5,70	7,00
metatarso	5,30	5,80	4,60	4,70	7,60	8,00	6,60	7,60
tarso	1,30	1,30	1,10	1,30	1,40	1,30	1,20	1,40
Total	19,60	20,00	16,10	18,90 mm	25,30	26,70	21,80	25,00 mm

Fórmula — 2, 1, 4, 3   2, 1 = 4, 3

Nº 1518 (filhote): / Nº 1518 (filhote):

	Nº 1518				Nº 1518			
fêmur	2,70	2,80	2,30	2,60 mm	3,60	3,90	3,00	3,60 mm
patela	0,70	0,80	0,60	0,60	0,80	1,00	0,60	0,70
tibia	2,40	2,40	1,90	2,20	3,40	3,60	2,80	3,05
metatarso	2,30	2,40	2,00	2,40	3,85	3,60	2,80	3,30
tarso	1,00	1,10	0,90	0,80	1,20	1,20	1,00	1,10
Total	9,00	9,50	7,70	8,60 mm	12,30	13,30	9,90	11,70 mm

Fórmula — 2, 1, 4, 3   2, 1, 4, 3

Nº 1530 (filhote): / Nº 1535:

	Nº 1530				Nº 1535			
fêmur	2,40	2,70	2,20	2,30 mm	5,20	5,60	4,80	5,20 mm
patela	0,70	0,70	0,60	0,60	1,20	1,20	1,20	1,20
tibia	2,30	2,70	1,90	2,20	5,10	5,30	4,00	4,80
metatarso	2,25	2,70	2,10	2,20	5,00	5,80	4,50	5,40
tarso	1,00	1,10	0,90	1,00	1,20	1,20	1,00	1,10
Total	8,70	9,90	7,70	8,30 mm	17,70	19,10	15,50	17,70 mm

Fórmula — 2, 1, 4, 3   2, 1 = 4, 3

Médias aritméticas dos comprimentos das pernas:

a) em fêmeas adultas: 22,60 mm — 23,80 mm — 19,23 mm — 22,17 mm;

b) em fêmeas filhotes: 11,90 mm — 12,90 mm — 10,20 mm — 11,60 mm.

"Espécie B (fig. 2)

Machos

Comprimentos dos artic. das pernas: / Comprimento e largura dos palpos:

Nº 268:

					Palpos
fêmur	6,00	7,00	6,00	7,20 mm	3,70 × 0,50 mm
patela	1,50	1,40	1,50	1,50	1,10 × 0,50
tibia	6,60	6,40	5,20	6,60	2,60 × 0,90
metatarso	7,00	7,50	6,50	7,80	—
tarso	2,00	2,20	1,80	2,20	0,50 × 0,54
Total	23,10	24,50	20,90	25,40 mm	7,90 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3

bulbo 0,50 × 0,50 mm
êmbolo 1,45 mm — recurvo

Nº 271:

fêmur	6,30	7,30	6,10	7,40 mm	4,00 × 0,50 mm
patela	1,50	1,50	1,30	1,50	1,30 × 0,60
tíbia	6,80	6,70	5,50	7,00	2,60 × 1,10
metatarso	7,10	7,60	6,60	8,00	—
tarso	2,00	2,20	1,80	2,30	0,60 × 0,65
Total	23,70	25,20	21,30	26,30 mm	8,50 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3

bulbo 0,50 × 0,70 mm
êmbolo 1,40 mm — recurvo

Nº 272 — Comprimento das pernas: Palpos (comprimento e largura):

fêmur	6,50	7,00	6,30	7,00 mm	3,90 × 0,45 mm
patela	1,50	1,40	1,30	1,60	1,20 × 0,50
tíbia	7,00	7,50	5,80	7,00	2,50 × 0,90
metatarso	6,90	7,80	6,90	8,60	—
tarso	2,00	2,00	1,80	2,00	0,50 × 0,50
Total	23,90	25,80	20,10	26,10 mm	8,10 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,90 × 4,20 mm

bulbo 0,45 × 0,53 mm
êmbolo 1,50 mm — recurvo

Nº 272: macho, filhote, com o tarso periforme, ainda sem bulbo:

fêmur	4,00	4,40	3,80	4,70 mm
patela	1,20	1,10	1,10	1,30
tíbia	4,00	4,20	3,20	4,30
metatarso	4,00	4,40	3,80	5,40
tarso	1,50	1,80	1,60	1,60
Total	15,70	15,90	13,40	16,30 mm

Fase evolutiva — Uma ecdise antes da idade adulta.

Fórmula — 4, 2 = 1, 3
Cefalotórax — 3,40 × 3,20 mm

Nº 276:

fêmur	6,00	7,00	6,00	7,50 mm	3,70 × 0,60 mm
patela	1,80	1,80	1,50	1,70	1,30 × 0,70
tíbia	7,00	7,50	5,80	7,20	2,30 × 0,90
metatarso	6,90	7,70	6,80	9,10	—
tarso	1,30	1,40	1,20	1,50	0,50 × 0,50
Total	23,00	25,40	21,30	27,00 mm	7,80 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,00 × 4,20 mm

bulbo 0,50 × 0,50 mm
êmbolo 1,20 mm — recurvo

Nº 277:

fêmur	6,80	7,50	6,80	7,50 mm	4,00 × 0,40 mm
patela	1,80	1,40	1,10	1,50	1,20 × 0,50
tíbia	7,20	7,50	7,00	7,20	2,70 × 0,90
metatarso	7,90	8,00	6,80	8,60	—
tarso	2,00	2,00	1,80	2,10	0,70 × 0,70
Total	25,70	26,40	23,50	26,90 mm	8,60 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,80 × 4,10 mm

bulbo 0,40 × 0,50 mm
êmbolo 0,80 mm — recurvo

Nº 628 (filhote):

fêmur	4,80	5,20	4,60	5,70 mm	1,40 × 0,35 mm
patela	1,20	1,30	1,20	1,40	0,60 × 0,40
tíbia	4,60	5,00	4,00	5,30	1,30 × 0,40
metatarso	4,40	4,90	4,20	5,80	—
tarso	1,50	1,60	1,50	1,80	0,30 × 0,35
Total	16,50	18,00	15,50	20,00 mm	2,60 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 3,70 × 3,20 mm

bulbo 0,35 × 0,35 mm
êmbolo 0,75 mm — recurvo

Nº 1145 — Pindamonhangaba, São Paulo — 2/10/1950:

fêmur	5,20	6,00	5,10	5,50 mm	3,30 × 0,35 mm
patela	1,50	1,50	1,40	1,50	1,20 × 0,50
tibia	5,90	6,70	5,00	6,30	2,20 × 0,80
metatarso	6,00	7,00	6,40	8,00	—
tarso	1,80	1,90	1,60	2,10	0,40 × 0,70
Total	20,40	23,10	19,50	24,40 mm	7,10 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,50 × 4,10 mm

bulbo 0,60 × 0,60 mm
êmbolo 1,20 mm — recurvo

Nº 1308:

fêmur	6,60	7,30	6,50	7,40 mm	3,80 × 0,40 mm
patela	1,80	1,50	1,40	1,70	1,30 × 0,60
tíbia	7,00	7,40	6,20	7,80	2,70 × 0,95
metatarso	7,00	7,50	6,80	8,20	—
tarso	1,90	1,90	1,80	2,00	0,80 × 0,80
Total	24,30	25,60	22,70	27,10 mm	8,60 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,30 × 4,80 mm

bulbo 0,50 × 0,50 mm
êmbolo 1,40 mm — recurvo

Nº 1308 (filhote, ainda sem bulbo):

fêmur	4,90	5,00	4,50	5,50 mm
patela	1,20	1,20	1,20	1,20
tibia	4,70	4,90	3,80	5,00
metatarso	4,60	5,00	4,70	6,00
tarso	1,80	1,70	1,40	1,60
Total	17,20	17,80	15,60	19,30 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3

Nº 1308:

fêmur	5,70	6,50	5,50	6,70 mm	3,00 × 0,35 mm
patela	1,30	1,30	1,20	1,30	1,10 × 0,40
tíbia	6,10	6,80	5,00	6,60	2,00 × 0,80
metatarso	6,10	7,30	5,30	8,10	—
tarso	1,90	1,80	1,60	1,90	0,60 × 0,65
Total	21,10	23,70	18,60	24,60 mm	6,70 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,50 × 4,10 mm

bulbo 0,60 × 0,65 mm
êmbolo 1,00 mm — recurvo

Nº 1475:

fêmur	6,50	7,30	6,70	7,70 mm	4,00 × 0,40 mm
patela	1,60	1,60	1,50	1,70	1,30 × 0,45
tíbia	7,20	8,00	6,10	7,50	2,45 × 0,90
metatarso	7,20	8,50	7,50	9,30	—
tarso	2,10	2,10	1,50	2,00	0,70 × 0,70
Total	24,60	27,50	23,30	28,20 mm	8,45 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,50 × 4,00 mm

bulbo 0,50 × 0,50 mm
êmbolo 1,40 mm — recurvo

Nº 1506 (Viña del Mar, Chile):

fêmur	5,00	5,00	4,70	5,80 mm	4,00 × 0,40 mm
patela	1,40	1,40	1,30	1,40	1,00 × 0,40
tíbia	4,60	4,80	3,80	5,00	2,50 × 0,80
metatarso	4,60	5,00	4,50	6,20	—
tarso	1,40	1,50	1,20	1,40	0,80 × 0,80
Total	17,00	17,70	15,50	19,80 mm	7,80 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,00 × 4,60 mm

bulbo 0,70 × 0,70 mm
êmbolo 1,60 mm — recurvo

Nº 1509 (Montevidéo) — filhote:

fêmur	3,60	4,00	3,50	4,30 mm	
patela	1,00	0,90	0,80	1,00	1,40 × 0,30 mm
tíbia	3,65	3,80	3,00	3,90	0,50 × 0,30
metatarso	3,50	4,00	3,40	4,80	1,00 × 0,50
tarso	1,40	1,50	1,10	1,50	—
					0,70 × 0,65
Total	13,10	14,20	11,80	15,50 mm	2,60 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 3,00 × 2,40 mm

sem bulbo

Nº 1529:

fêmur	6,80	7,70	6,70	8,00 mm	4,00 × 0,40 mm
patela	1,70	1,80	1,50	1,70	1,20 × 0,50
tíbia	7,20	7,90	6,00	7,40	2,80 × 0,80
metatarso	7,00	8,30	7,10	9,70	—
tarso	2,00	2,000	1,60	2,00	0,60 × 0,60
Total	24,70	27,70	22,90	28,80 mm	8,60 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,00 × 4,20 mm

bulbo 0,6 × 0,5 mm
êmbolo 1,50 mm — pouco recurvo

Nº 1534:

fêmur	6,00	6,80	6,00	7,10 mm	3,80 × 0,40 mm
patela	1,50	1,60	1,40	1,70	1,30 × 0,60
tíbia	6,50	7,40	5,50	6,90	2,40 × 0,86
metatarso	6,80	7,90	6,70	8,60	—
tarso	1,80	2,00	1,60	1,90	0,60 × 0,60
Total	22,60	24,70	21,20	26,20 mm	8,10 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,20 × 3,70 mm

bulbo 0,50 × 0,60 mm
êmbolo 1,50 mm — recurvo

Nº 1534 (filhote, ainda sem bulbo):

fêmur	4,60	4,80	4,30	5,20 mm
patela	1,10	1,10	1,00	1,20
tibia	4,30	4,60	3,60	4,90
metatarso	4,20	4,80	4,20	5,70
tarso	1,40	1,60	1,20	1,70
Total	15,60	16,90	14,30	18,70 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 3,50 × 3,20 mm

Nº 1534 (filhote de muito pouca idade):

fêmur	2,30	2,40	2,10	2,60 mm
patela	0,70	0,70	0,50	0,70
tibia	1,90	2,10	1,70	2,30
metatarso	1,80	1,90	1,70	2,60
tarso	0,90	1,10	0,70	1,20
Total	7,60	8,20	6,70	9,40 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 2,70 × 2,40 mm

Nº 1568 (Santiago do Chile):

fêmur	6,30	7,10	6,20	7,20 mm	3,80 × 0,60 mm
patela	1,50	1,50	1,30	1,60	1,35 × 0,70
tibia	6,80	7,60	5,50	7,00	2,45 × 1,00
metatarso	7,00	7,50	6,80	8,60	—
tarso	1,80	1,90	1,50	2,00	0,70 × 0,70
Total	23,40	25,60	21,30	26,40 mm	8,30 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,10 × 4,40 mm

bulbo 0,70 × 0,60 mm
êmbolo 1,50 mm — recurvo

Nº 1568:

patela	6,00	6,60	5,70	7,20 mm	3,60 × 0,50 mm
fêmur	1,30	1,40	1,20	1,50	1,10 × 0,50
tibia	6,50	7,10	5,50	7,00	2,00 × 0,95
metatarso	6,60	7,50	6,40	8,20	—
tarso	1,80	1,90	1,50	2,00	0,70 × 0,70
Total	22,20	24,50	20,30	25,90 mm	7,40 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,00 × 4,45 mm

bulbo 0,65 × 0,65 mm
êmbolo 1,15 mm — recurvo

Nº 1568 (filhote, ainda sem bulbo):

fêmur	5,00	5,50	5,00	5,90 mm	1,90 × 0,50 mm
patela	1,20	1,20	1,20	1,30	1,00 × 0,80
tibia	4,90	5,00	4,10	5,40	1,10 × 0,60
metatarso	4,60	5,00	4,50	6,20	—
tarso	1,60	1,70	1,50	1,80	1,60 × 0,80
Total	17,30	18,40	16,30	20,60 mm	5,60 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 3,90 × 3,40 mm

Nº 1568 (b) — La Serena, Chile:

fêmur	5,80	6,50	4,90	6,90 mm	3,50 × 0,40 mm
patela	1,60	1,70	1,40	1,70	1,30 × 0,50
tibia	6,30	6,80	4,10	6,70	2,10 × 0,90
metatarso	6,40	7,30	5,20	8,10	—
tarso	1,80	1,90	1,50	2,00	0,80 × 0,80
Total	21,90	24,20	17,10	25,40 mm	7,70 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,00 × 4,60 mm

bulbo 0,65 × 0,65 mm
êmbolo 1,00 mm — recurvo

Nº 1568 (b) — La Serena, Chile:

fêmur	6,50	7,60	6,50	8,10 mm	4,30 × 0,50 mm
patela	1,80	2,00	1,70	1,80	1,20 × 0,70
tibia	7,60	8,20	6,10	7,90	2,70 × 0,90
metatarso	7,70	8,60	7,40	9,50	—
tarso	2,00	2,00	1,80	2,00	0,80 × 0,80
Total	25,60	28,40	23,50	29,30 mm	9,00 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,20 × 4,30 mm

bulbo 0,70 × 0,70 mm
êmbolo 1,25 mm — recurvo

Nº 1568 (c) — Santiago, Chile (filhote, sem bulbo):

fêmur	4,00	4,50	4,00	4,90 mm
patela	1,00	1,10	1,00	1,10
tibia	3,90	4,30	3,40	4,70
metatarso	4,00	4,30	3,90	5,30
tarso	1,60	1,70	1,50	1,70
Total	14,50	15,90	13,80	17,70 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 3,80 × 3,40 mm

Nº 1585 — Santiago do Chile:

fêmur	6,00	7,00	6,00	7,20 mm	4 00 × 0,45 mm
patela	1,60	1,70	1,50	1,80	1,10 × 0,60
tibia	6,90	7,30	5,40	7,00	2,40 × 0,90
metatarso	7,00	8,00	7,00	8,90	—
tarso	2,00	2,00	1,60	2,00	0,75 × 0,75
Total	23,50	26,00	21,50	26,90 mm	8,25 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,10 × 3,60 mm

bulbo 0,50 × 0,50
êmbolo 1,20 mm — recurvo

Nº 1585 (V.) — Santiago, Chile (filhote, sem bulbo):

fêmur	3,90	4,10	3,70	4,50 mm
patela	1,00	1,20	1,00	1,20
tibia	3,60	3,60	2,90	4,10
metatarso	3,70	3,90	3,50	5,00
tarso	1,50	1,60	1,30	1,60
Total	13,70	14,40	12,40	16,40 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 3,60 × 3,00 mm

Nº 1585 (V) — Santiago, Chile (filhote, sem bulbo):

fêmur	5,00	5,20	4,70	6,70 mm
patela	1,40	1,40	1,20	1,40
tíbia	4,60	4,70	3,80	5,00
metatarso	4,80	4,90	4,30	6,20
tarso	1,60	1,80	1,30	1,80
Total	17,40	18,00	15,30	21,10 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,40 × 3,90 mm

Nº 1585 (II) — Santiago (filhote):

fêmur	5,50	6,00	5,30	6,50 mm
patela	1,60	1,70	1,50	1,60
tíbia	5,40	5,80	4,60	6,00
metatarso	5,40	6,00	5,70	7,60
tarso	1,70	1,80	1,40	1,80
Total	19,60	21,30	18,50	23,50 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,30 × 3,90 mm

Nº 1585 (II) — Santiago (filhote):

5,00	5,50	4,80	5,80 mm
1,50	1,60	1,40	1,50
4,70	5,00	4,30	5,20
4,70	5,00	4,70	6,20
1,60	1,60	1,50	1,70
17,50	18,70	16,70	20,40 mm

4, 2, 1, 3
4,20 × 3,90 mm

Nº 1612 — Perú

fêmur	7,00	7,80	7,00	8,20 mm	4,50 × 0,50 mm
patela	1,90	1,90	1,70	1,90	1,30 × 0,70
tíbia	8,00	8,60	6,80	8,30	2,80 × 0,90
metatarso	7,60	8,90	7,40	10,50	—
tarso	1,80	1,90	1,70	2,00	0,80 × 0,80
Total	26,30	29,10	24,60	30,90 mm	9,40 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,30 × 4,80 mm

bulbo 0,70 × 0,70 mm
êmbolo 1,35 mm — recurvo

Nº 1686 — Buenos Aires:

fêmur	6,00	6,70	5,90	7,10 mm	4,00 × 0,45 mm
patela	1,50	1,60	1,40	1,60	1,10 × 0,60
tíbia	6,60	6,90	5,40	6,90	2,50 × 0,80
metatarso	6,60	7,60	6,80	8,60	—
tarso	1,70	1,80	1,50	1,90	0,60 × 0,80
Total	22,40	24,60	21,00	26,10 mm	8,20 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,10 × 3,60 mm

bulbo 0,60 × 0,40 mm
êmbolo 1,30 mm — recurvo

Médias aritméticas dos machos:

1. Dos comprimentos das pernas:

   a) Em adultos: 23,15 mm — 25,24 mm — 21,04 mm — 26,37 mm;

   b) Em filhotes: 15,47 mm — 16,47 mm — 14,20 mm — 18,24 mm.

2. Dos comprimentos e larguras dos artículos dos palpos (adultos):

fêmur — 3,60 × 0,44 mm
patela — 1,13 × 0,53 mm
tíbia — 2,33 × 0,84 mm
tarso — 0,64 × 0,67 mm

Fêmeas

Aferição dos comprimentos dos artículos das pernas:

Nº 268 — São Simão, R. G. do Sul:

fêmur	6,00	6,20	5,80	6,50 mm
patela	1,80	2,00	1,70	2,00
tíbia	5,80	6,20	5,00	6,50
metatarso	5,80	6,60	6,00	7,60
tarso	1,60	1,70	1,60	2,00
Total	21,00	22,70	20,30	24,60 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,10 × 4,50 mm

Nº 270 — Francisco Sodré, São Paulo (filhote):

fêmur	4,30	4,80	4,20	5,00 mm
patela	1,10	1,20	1,00	1,10
tíbia	4,00	4,30	3,50	4,70
metatarso	4,20	4,50	4,00	5,50
tarso	1,20	1,50	1,10	1,40
Total	15,80	16,30	13,80	17,70 mm

4, 2, 1, 3
4,40 × 3,10 mm

Nº 272 — Cerqueira César:

fêmur	6,20	6,20	6,00	7,20 mm
patela	1,80	2,00	1,80	1,80
tíbia	6,10	6,20	5,00	6,50
metatarso	5,90	6,20	5,70	7,80
tarso	1,60	1,80	1,50	1,90
Total	21,60	22,40	20,00	25,40 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,80 × 4,70 mm

Nº 277 — São Carlos:

fêmur	6,00	6,10	5,10	6,70 mm
patela	1,40	1,60	1,40	1,60
tíbia	5,60	6,70	4,60	6,00
metatarso	5,60	6,00	5,70	7,20
tarso	2,00	2,00	1,80	2,10
Total	20,20	22,10	18,20	23,10 mm

4, 2, 1, 3
5,00 × 4,20 mm

Nº 279 — São Paulo, Capital:

fêmur	5,50	5,90	5,50	6,50 mm
patela	1,50	1,80	1,70	1,80
tíbia	5,50	5,70	4,50	6,00
metatarso	5,50	5,80	5,40	7,00
tarso	1,70	1,80	1,30	1,80
Total	19,70	21,00	17,40	23,10 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,00 × 4,00 mm

Nº 281 — Lagoa, Santa Catarina:

fêmur	6,80	7,00	6,30	7,60 mm
patela	2,00	2,00	1,80	2,10
tíbia	6,80	7,00	5,30	7,00
metatarso	6,80	7,00	6,60	8,50
tarso	1,80	1,80	1,50	1,60
Total	24,20	24,80	21,50	26,80 mm

4, 2, 1, 3
6,00 × 5,20 mm

Nº 282 — Barcelos, Rio:					Nº 282:			
fêmur	5,80	6,00	5,60	6,50 mm	5,30	5,80	5,10	6,20 mm
patela	1,90	2,00	1,90	2,00	1,80	1,80	1,70	1,80
tibia	5,80	6,00	4,80	6,00	5,30	5,70	4,50	6,00
metatarso	5,50	6,00	5,50	7,20	5,20	5,70	5,00	7,00
tarso	1,80	1,80	1,50	1,80	1,80	1,70	1,50	1,80
Total	20,80	21,80	19,30	23,50 mm	19,40	20,70	17,80	22,80 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3 — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,80 × 4,00 mm — 5,00 × 4,00 mm

Nº 593 — Montevidéo (filhote):					Nº 1308 — Montevidéo:			
fêmur	3,30	3,60	3,10	3,90 mm	5,80	5,90	5,40	6,20 mm
patela	1,00	1,00	0,90	1,00	1,60	1,60	1,50	1,50
tibia	3,00	3,20	2,50	3,50	5,60	5,80	4,50	6,00
metatarso	2,80	3,20	2,80	4,00	5,10	5,70	5,20	7,00
tarso	1,40	1,40	1,40	1,50	1,40	1,50	1,30	1,60
Total	11,50	12,40	11,10	13,90 mm	19,50	20,50	17,90	22,30 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3 — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 2,80 × 2,40 mm — 5,00 × 4,00 mm

Nº 1495 — Butantan:					Nº 1509 — Montevidéo:			
fêmur	5,50	5,70	5,30	6,30 mm	6,70	6,20	5,70	6,90 mm
patela	1,60	1,70	1,40	1,60	1,80	1,80	1,70	1,80
tibia	5,50	5,70	4,50	5,80	5,80	6,00	4,80	6,20
metatarso	5,30	5,40	5,10	6,50	5,80	6,00	5,70	7,20
tarso	1,40	1,40	1,30	1,60	1,70	1,80	1,60	1,90
Total	19,30	19,90	17,60	21,80 mm	20,80	21,80	19,50	24,00 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3 — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,00 × 4,00 mm — 5,30 × 4,70 mm

Nº 1509 — Filhote:					Nº 1509 — Filhote:			
fêmur	3,80	4,00	3,50	4,40 mm	3,60	3,80	3,30	4,00 mm
patela	0,90	0,90	1,00	1,00	0,80	0,90	0,70	1,00
tibia	3,60	3,70	2,90	4,00	3,10	3,50	2,80	3,80
metatarso	3,50	3,50	3,40	4,50	3,00	3,20	3,20	4,40
tarso	1,20	1,30	1,20	1,60	1,30	1,40	1,20	1,40
Total	13,00	13,40	12,00	15,50 mm	11,80	12,80	11,20	14,60 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3 — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 3,50 × 3,10 mm — 3,00 × 2,40 mm

Nº 1529 — Butantan (filhote):					Nº 1534 — Fazenda Butantan:			
fêmur	2,60	2,90	2,00	3,00 mm	5,00	5,10	4,80	5,50 mm
patela	0,80	0,90	0,70	0,80	1,30	1,40	1,30	1,30
tibia	2,40	2,50	2,00	2,80	4,50	4,80	3,70	5,00
metatarso	2,00	2,30	2,20	3,00	4,30	5,00	4,70	6,00
tarso	1,20	1,20	1,00	1,20	1,30	1,40	1,20	1,60
Total	9,00	9,80	7,90	10,80 mm	16,40	17,70	15,70	19,40 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3 — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 2,30 × 2,00 mm — 4,50 × 4,00 mm

Nº 1534 — Fazenda Butantan:

fêmur	4,60	5,00	4,40	5,60	mm
patela	1,30	1,30	1,20	1,50	
tíbia	4,80	4,70	4,00	4,90	
metatarso	4,80	5,00	4,50	5,70	
tarso	1,30	1,30	1,30	1,60	
Total	16,80	17,30	15,40	19,30	mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,60 × 4,20 mm

Nº 1534 — Fazenda Butantan:

fêmur	5,90	6,00	5,70	6,00	mm
patela	1,30	1,30	1,20	1,50	
tíbia	6,10	6,20	5,40	6,00	
metatarso	6,00	6,10	5,70	6,80	
tarso	1,30	1,40	1,30	1,30	
Total	20,60	21,00	19,30	21,60	mm

4, 2, 1, 3
5,00 × 4,60 mm

Nº 1534 — Muito jovem:

fêmur	2,20	2,20	1,80	2,40	mm
patela	0,70	0,80	0,60	0,70	
tíbia	2,00	2,00	1,60	2,60	
metatarso	1,80	2,00	1,70	2,80	
tarso	0,80	1,00	0,70	1,00	
Total	7,50	8,00	6,40	9,50	mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 3,10 × 2,80 mm

Nº 1534 — Filhote:

fêmur	2,90	3,30	2,70	3,20	mm
patela	0,80	1,00	0,90	0,90	
tíbia	2,60	2,80	2,00	3,10	
metatarso	2,40	2,80	2,30	3,50	
tarso	1,10	1,20	1,10	1,30	
Total	9,80	11,10	9,00	12,00	mm

4, 2, 1, 3
3,30 × 3,00 mm

Nº 1567 (a) — Santiago, Chile:

fêmur	4,80	5,20	4,70	5,70	mm
patela	1,20	1,40	1,30	1,60	
tíbia	4,80	4,90	4,00	5,10	
metatarso	4,70	5,30	4,90	6,40	
tarso	1,60	1,60	1,40	1,80	
Total	17,10	18,40	16,30	20,60	mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
cefalotórax — 4,50 × 4,00 mm

Nº 1567 (b) — Santiago, Chile:

fêmur	4,50	4,80	4,20	5,20	mm
patela	1,30	1,30	1,20	1,30	
tíbia	4,30	4,30	3,60	4,80	
metatarso	4,20	4,60	4,20	5,70	
tarso	1,50	1,70	1,40	1,80	
Total	15,80	16,70	14,00	18,80	mm

4, 2, 1, 3
3,60 × 3,20 mm

Nº 1567 (c) — Santiago (filhote):

fêmur	3,60	3,90	3,50	4,20	mm
patela	1,00	1,10	0,90	1,00	
tíbia	3,40	3,60	2,80	3,90	
metatarso	3,20	3,80	3,20	4,40	
tarso	1,40	1,40	1,30	1,40	
Total	12,70	13,80	11,70	14,90	mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 3,40 × 3,00 mm

Nº 1567 (d) — Santiago (filhote):

fêmur	4,20	4,60	4,00	5,00	mm
patela	1,10	1,20	1,00	1,20	
tíbia	4,10	4,30	3,30	4,70	
metatarso	4,00	4,40	4,00	5,60	
tarso	1,50	1,50	1,30	1,70	
Total	14,90	16,00	13,60	18,20	mm

4, 2, 1, 3
3,65 × 3,20 mm

Nº 1567 (e) — Santiago (filhote):

fêmur	3,50	3,80	3,40	4,10	mm
patela	0,90	1,10	0,90	1,00	
tíbia	3,20	3,40	2,80	3,70	
metatarso	3,20	3,50	3,10	4,50	
tarso	1,20	1,50	1,20	1,60	
Total	12,00	13,30	11,40	14,90	mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 3,40 × 3,10 mm

Nº 1567 (f) — Santiago:

fêmur	5,80	6,20	5,70	6,80	mm
patela	1,60	1,70	1,40	1,70	
tíbia	5,70	6,00	4,70	6,10	
metatarso	5,40	5,90	5,50	7,10	
tarso	1,80	1,80	1,50	2,00	
Total	20,30	21,60	18,80	23,70	mm

4, 2, 1, 3
5,20 × 4,30 mm

Nº 1567 (g) — Santiago:

fêmur	4,90	5,20	4,80	5,70 mm
patela	1,40	1,40	1,20	1,60
tibia	4,70	5,10	4,00	5,30
metatarso	4,60	4,80	4,40	6,00
tarso	1,70	1,80	1,60	1,90
Total	17,30	18,30	16,00	20,50 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,50 × 4,00 mm

Nº 1567 (h) — Santiago:

fêmur	5,20	5,70	5,00	6,10 mm
patela	1,50	1,60	1,50	1,50
tibia	5,00	5,20	4,20	5,70
metatarso	4,80	5,10	5,00	6,80
tarso	1,50	1,60	1,40	1,80
Total	18,00	19,20	17,10	21,90 mm

4, 2, 1, 3
5,30 × 4,40 mm

Nº 1567 (i) — La Serena:

fêmur	6,70	7,20	5,80	7,50 mm
patela	1,60	1,70	1,40	1,70
tibia	6,50	6,60	5,10	6,70
metatarso	5,80	6,40	5,40	8,20
tarso	1,70	1,80	1,60	1,90
Total	22,30	23,70	19,70	25,00 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,60 × 4,70 mm

Nº 1567 (j) — La Serena:

fêmur	5,90	6,40	5,70	6,80 mm
patela	1,30	1,40	1,20	1,50
tibia	5,70	6,20	4,50	6,10
metatarso	5,30	6,00	5,30	7,20
tarso	1,60	1,80	1,40	2,00
Total	19,80	21,80	18,10	23,60 mm

4, 2, 1, 3
5,00 × 4,20 mm

Nº 1567 (k) — Santiago:

fêmur	5,50	6,10	5,40	6,30 mm
patela	1,30	1,50	1,20	1,70
tibia	5,30	5,70	4,50	5,90
metatarso	4,90	5,50	5,00	7,00
tarso	1,60	1,70	1,30	1,90
Total	18,60	20,50	17,40	22,80 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,20 × 4,40 mm

Nº 1585 — Santiago:

fêmur	6,70	7,10	6,40	7,00 mm
patela	2,10	2,10	1,90	2,10
tibia	6,70	6,70	5,20	6,90
metatarso	6,20	6,80	6,00	8,00
tarso	1,90	1,70	1,70	1,90
Total	23,60	24,40	21,20	25,90 mm

4, 2, 1, 3

Nº 1586 — Tarapacá, Chile:

fêmur	6,10	6,60	6,00	7,20 mm
patela	1,60	1,70	1,60	1,80
tibia	5,90	6,10	4,90	6,30
metatarso	5,80	6,20	5,60	7,50
tarso	1,60	1,80	1,50	1,80
Total	21,00	22,40	19,60	24,60 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 6,10 × 4,50 mm

Nº 1584 — Viña del Mar, Chile:

fêmur	5,80	6,00	5,70	6,80 mm
patela	1,50	1,80	1,50	1,80
tibia	5,70	6,00	4,60	6,00
metatarso	5,60	6,00	5,40	7,30
tarso	1,70	1,80	1,60	1,80
Total	20,30	21,60	18,80	23,70 mm

4, 2, 1, 3
5,20 × 4,30 mm

Nº 1612 — San Bartolo, Perú:

fêmur	5,80	6,20	5,70	6,80 mm
patela	1,50	1,60	1,40	1,60
tibia	5,70	6,00	4,70	6,10
metatarso	5,40	5,90	5,50	7,10
tarso	1,80	1,80	1,60	2,00
Total	20,20	21,50	18,90	23,60 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 5,30 × 4,50 mm

Nº 1686 — Buenos Aires:

fêmur	6,50	6,60	5,60	6,90 mm
patela	1,70	1,90	1,60	1,80
tibia	6,20	6,20	5,90	6,20
metatarso	6,00	6,40	5,70	7,70
tarso	1,40	1,70	1,60	1,90
Total	21,80	22,80	20,40	23,50 mm

4, 2, 1, 3
5, 10 × 4,50 mm

Nº 1687 — Sucre, Bolivia:

fêmur	7,00	7,70	6,70	7,90 mm
patela	2,00	2,10	2,00	2,00
tibia	6,90	7,40	6,70	7,00
metatarso	6,50	7,10	6,50	8,20
tarso	1,80	1,80	1,80	1,90
Total	24,20	26,10	23,70	27,00 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 6,30 × 5,70 mm

Médias aritméticas dos comprimentos das pernas:

a) Em 27 fêmeas adultas: 20,86 mm — 21,46 mm — 18,78 mm — 23,33 mm;

b) Em 8 fêmeas jovens: 13,44 mm — 14,34 mm — 12,35 mm — 16,05 mm;

c) Em 3 filhotes: 8,76 mm — 9,63 mm — 7,70 mm — 10,76 mm.

"Espécie C"

Machos (fig. 3)

Fórmulas das pernas:

Comprimentos e larguras (na patela e tibia mediram-se as larguras apicais, que são as maiores nesta espécie) dos artículos dos palpos:

Nº 1714 — Pôrto Alegre:

					Palpos
fêmur	5,7	6,8	5,1	5,8 mm	2,3 × 0,35 mm
patela	1,3	1,3	1,2	1,4	0,9 × 0,40
tibia	5,9	7,6	4,5	5,3	1,3 × 0,42
metatarso	6,1	8,0	5,3	6,3	—
tarso	1,5	1,8	0,9	1,4	0,7 × 0,40
Total	20,5	25,5	17,1	20,2 mm	5,2 mm

Fórmula — 4, 2, 1, 3
Cefalotórax — 4,70 × 4,30 mm

bulbo 0,60 × 0,43 mm
êmbolo 0,30 mm — curto, em gancho

Nº 1610 — Planaltina Nova, Goiás (perto de Brasilia):

					Palpos
fêmur	6,1	6,4	5,3	5,8 mm	2,45 × 0,36 mm
patela	1,1	1,3	1,0	1,1	1,00 × 0,40
tibia	6,3	7,1	4,9	5,9	1,50 × 0,41
metatarso	6,3	7,1	5,5	6,6	—
tarso	1,8	1,9	1,3	1,8	0,80 × 0,40
Total	21,6	23,8	18,0	21,2 mm	5,75 mm

Fórmula — 2, 1, 4, 3
Cefalotórax — 4,80 × 4,30 mm

bulbo 0,65 × 0,45 mm
êmbolo 0,30 mm — curto, curvo em gancho

Nº 1678 — Pôrto Alegre:

fêmur	5,0	6,1	4,2	5,0 mm	2,25 × 0,35 mm
patela	0,8	0,9	0,7	0,8	0,40 × 0,37
tibia	5,7	7,3	4,5	5,4	1,25 × 0,42
metatarso	5,7	7,7	5,0	5,7	—
tarso	1,4	1,5	1,2	1,4	0,7 × 0,41
Total	18,6	23,5	15,6	18,3 mm	4,60 mm

Fórmula — 2, 1 = 4, 3
Cefalotórax — 4,60 × 4,20 mm

bulbo 0,55 × 0,45 mm
êmbolo 0,30 mm — curto, curvo em gancho

Nº 630 — Santo Angelo, Rio Grande do Sul (filhote, sem bulbo):

fêmur	3,7	4,0	3,4	4,0 mm
patela	1,0	1,2	0,8	1,0
tibia	4,0	4,5	3,0	4,0
metatarso	4,1	4,6	3,2	4,1
tarso	1,2	1,3	1,1	1,1
Total	14,0	15,6	11,5	14,2 mm

Fórmula — 2, 1 = 4, 3
Cefalotórax — 2,80 × 2,40 mm

Nº 1232 — Quilombo, Rio Grande do Sul:

fêmur	7,3	9,5	6,8	7,1 mm	2,60 × 0,30 mm
patela	1,6	1,8	1,5	1,6	0,90 × 0,40
tibia	8,0	10,7	6,0	6,8	1,30 × 0,45
metatarso	8,5	11,5	7,0	7,8	—
tarso	1,7	1,9	1,6	1,7	0,80 × 0,40
Total	27,6	35,4	22,9	25,0 mm	5,60 mm

Fórmula — 2, 1, 4, 3
Cefalotórax — 4,90 × 4,40 mm

bulbo 0,55 × 0,45 mm
êmbolo 0,55 mm — curvo em gancho

Nº 1232 — filhote (ainda sem bulbo):

fêmur	5,2	5,9	4,7	5,0 mm
patela	1,2	1,3	1,1	1,1
tibia	5,0	6,0	4,0	5,4
metatarso	5,0	6,1	4,6	5,3
tarso	1,6	1,8	1,3	1,3
Total	18,0	21,1	15,7	18,1 mm

Fórmula — 2, 1 = 4, 3
Cefalotórax — 2,90 × 2,40 mm

Média aritmética dos comprimentos das pernas:

perna I — 22,22; perna II — 27,05; perna III — 18,40; perna IV — 21,17.

Média aritmética dos comprimentos e larguras dos artículos do palpo:

a) fêmur — 2,80 × 0,34 mm
b) patela — 0,80 × 0,40 mm
c) tíbia — 1,30 × 0,43 mm
d) tarso — 0,75 × 0,40 mm

Fêmeas (fig. 6)

Nº 630 — Santo Ângelo:

fêmur	7,0	7,2	6,0	6,8 mm
patela	1,8	1,8	1,5	1,7
tíbia	7,0	7,5	4,9	6,2
metatarso	7,0	8,0	5,8	7,4
tarso	1,7	1,8	1,3	1,4
Total	24,5	26,3	19,5	23,5 mm

Fórmula — 2, 1, 4, 3
Cefalotórax — 5,00 × 4,00 mm

Nº 630 — Jovem:

4,0	4,5	3,8	4,2 mm
1,1	1,2	0,8	0,9
4,0	4,3	3,0	3,8
4,2	4,8	4,0	4,5
1,5	1,7	1,2	1,2
14,8	16,5	12,8	14,6 mm

2, 1 = 4, 3
3,60 × 3,20 mm

Nº 1232 — Quilombo (filhote):

fêmur	4,5	4,6	4,1	4,4 mm
patela	1,1	1,1	1,1	1,0
tíbia	4,2	4,3	3,5	4,2
metatarso	4,9	4,8	4,0	4,8
tarso	1,2	1,3	1,2	1,2
Total	15,9	16,1	13,9	15,6 mm

Fórmula — 2, 1 = 4, 3
Cefalotórax — 3,50 × 3,20 mm

Nº 1649 — Pôrto Alegre:

5,5	6,0	5,0	5,6 mm
1,4	1,5	1,4	1,2
5,5	6,1	4,3	5,3
5,5	6,3	4,8	6,0
1,6	1,7	1,3	1,4
19,5	21,6	16,8	19,5 mm

2, 1 = 4, 3
4,60 × 4,20 mm

Nº 1714 — Pôrto Alegre:

fêmur	5,0	5,5	4,7	5,0 mm
patela	1,3	1,4	1,4	1,3
tíbia	4,9	5,3	3,8	4,8
metatarso	5,1	5,6	4,6	5,4
tarso	1,5	1,6	1,2	1,3
Total	17,8	19,4	15,7	17,8 mm

Fórmula — 2, 1 = 4, 3
Cefalotórax — 4,30 × 3,90 mm

Nº 1610 — Planaltina, Goiás:

6,0	6,3	5,2	5,8 mm
1,1	1,2	1,0	1,1
6,2	6,9	4,8	5,7
6,2	7,0	5,4	6,5
1,7	1,8	1,2	1,7
21,2	23,2	17,6	20,7 mm

2, 1 = 4, 3
4,60 × 4,30 mm

A respeito das dimensões dos receptáculos seminais das fêmeas e das curvaturas de seus canais eferentes, conseguimos aferir as seguintes medidas, como média:

Espécie A — bôlsa vesicular apical — 0,08-0,1 mm;
canal eferente, retilíneo — 0,15-0,20 mm;
distância entre os dois canais — 0,60 mm;
distância entre as duas vesículas — 0,40-0,15 mm.

As duas arcadas genitais (Fig. 4-c), uma superior e outra inferior, são formadas de trabéculas quitinizadas, tendo cada uma uma trave mediana horizontal, com bifurcação de encaixe, em que se apoiam as trabéculas laterais, que se articulam em seu extremo ínfero-posterior. A trave mediana horizontal tem em média 1,00 mm e os extremos ínfero-posteriores das trabéculas laterais estão afastados entre si cêrca de 1,20 mm, medida esta que corresponde exatamente à da fenda genital desta espécie.

A arcada genital pode ser destacada da formação quitinosa dos receptáculos seminais, sendo possível separá-la em arcada superior e inferior (como mostra a Fig. 4-c).

Na mesma articulação ínfero-posterior das duas arcadas encaixa-se também o extremo posterior da formação quitinosa dos receptáculos seminais (Fig. 4-a). A peça horizontal central mede cêrca de 0,80 mm e as duas peças laterais cêrca de 0,5 mm. As peças laterais estão escavadas, apresentando, bem visível, em seu átrio a entrada (redonda) para os dois receptáculos. Por esta entrada penetram os êmbolos do macho, no ato da transmissão dos espermatozóides, que são depositados nos receptáculos seminais. A Fig. 4-b mostra a mesma peça total pelo lado dorsal.

Espécie B — A arcada genital é tão delicada, que em muitas fêmeas não pode ser vista contra o colorido dos músculos vizinhos. Não nos foi possível separá-la em superior e inferior, como na espécie precedente, dada a sua grande delicadeza. A largura da peça mediana é de 0,60 a 0,70 mm (Fig. 5-c).

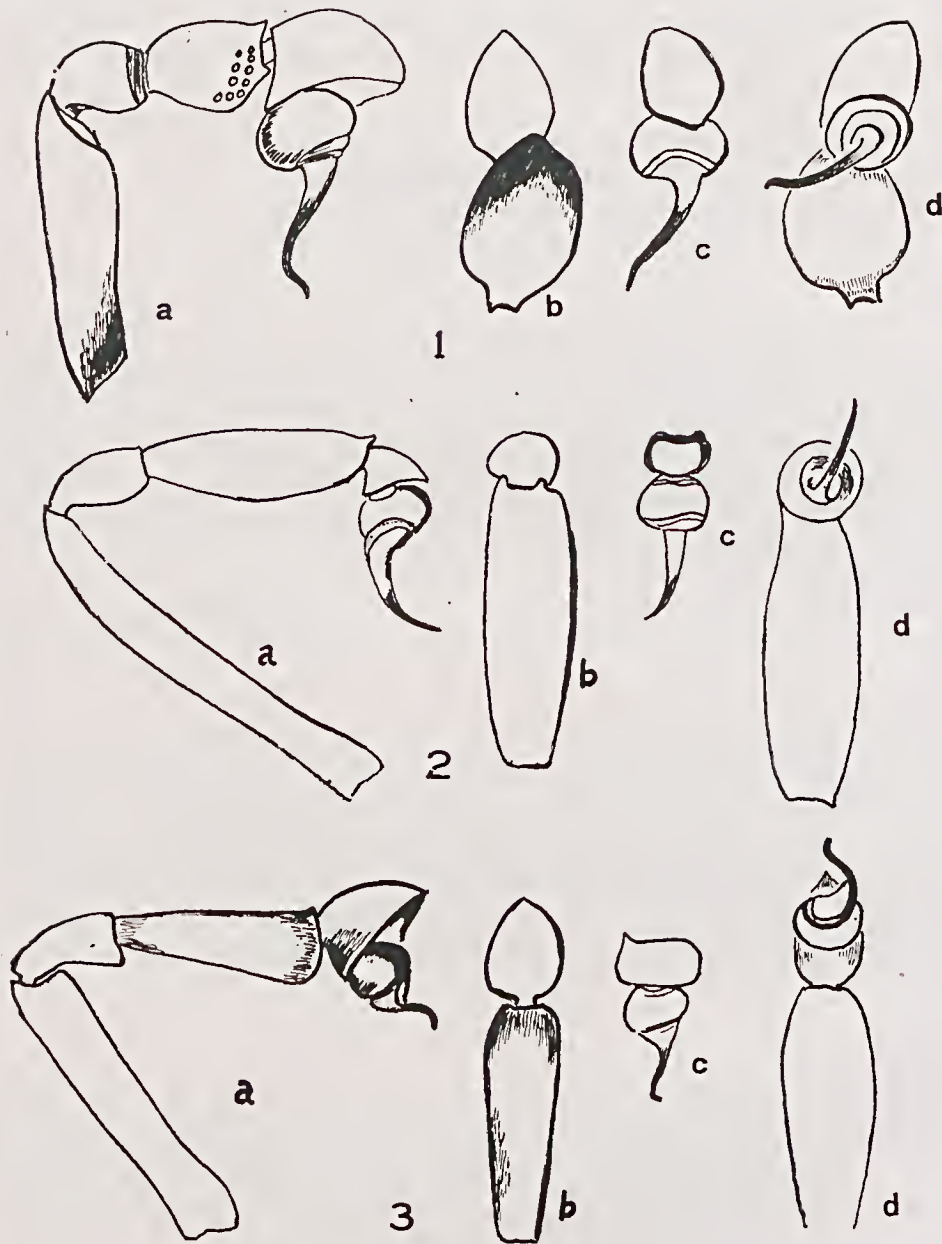
As figuras 5 —a e b — apresentam os dois receptáculos seminais, vista ventral e dorsal respectivamente; a vesícula apical é de um amarelo claro, medindo cêrca de 0,07 mm de diâmetro; o canal aferente, ligeiramente curvo, com 0,5 mm de comprimento por 0,03 mm de largura, contém em seu interior um lúmen estreito, que transparece por ser colorido de marrom. A peça central, que une os dois receptáculos, é extremamente delicada, podendo passar por imperceptível.

Palpo do macho

Fig. 1 — Espécie A
Fig. 2 — Espécie B
Fig. 3 — Espécie C

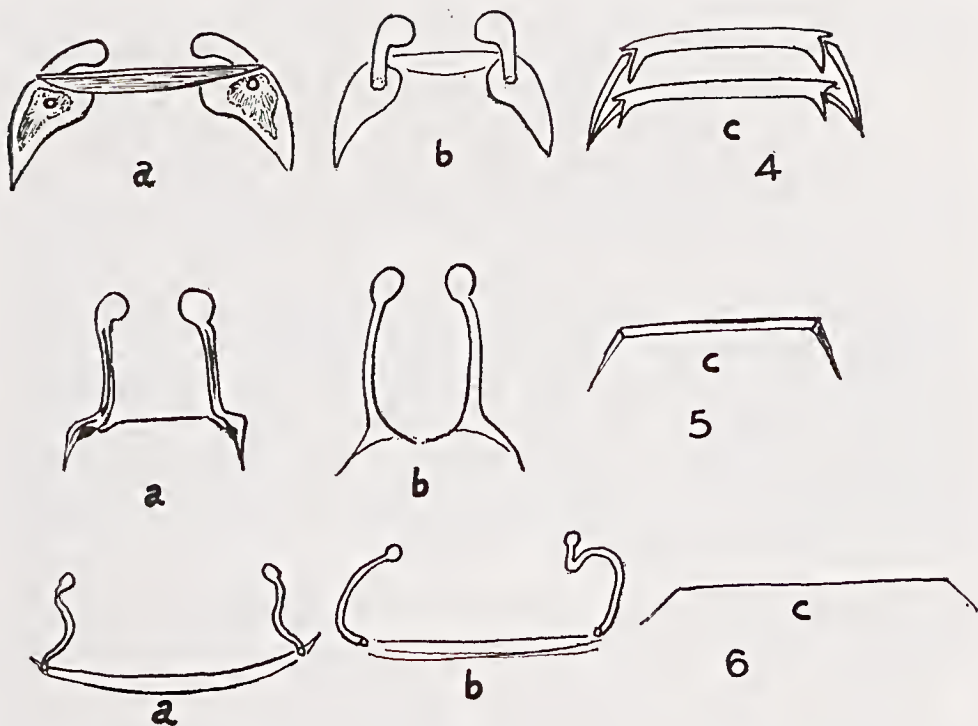
a) vista de perfil
b) vista dorsal, tíbia/tarso
c) vista dorso-apical, tarso/bulbo
d) vista ventral, tíbia/bulbo

Receptáculos seminais das fêmeas

Fig. 4 — Espécie A
Fig. 5 — Espécie B
Fig. 6 — Espécie C

a) vista ventral dos receptáculos
b) vista dorsal dos receptáculos
c) arcada genital

Espécie C — A arcada genital é tão delicada que não pode ser vista na maioria dos espécimes (Fig. 6-c). Entretanto, é bem mais larga que nas duas espécies precedentes, com cêrca de 1,20 mm de largura na trave central e 1,40 mm entre os cantos ínfero-posteriores até 1.80 mm, em alguns espécimes. Esta medida corresponde à largura da fenda genital, que é mais larga em tôdas as espécies.

As figuras 6 — a e b — apresentam os dois receptáculos seminais. O poro de saída desemboca diretamente na dobra da fenda genital. Os canais dos dois receptáculos quase nunca são simétricos, podendo um apresentar-se curvo em S e o outro em arco. Além disso, são os receptáculos muito pequenos, significativamente menores do que nas duas espécies precedentes; o alargamento apical, vesicular tem apenas cêrca de 0,04 mm de diâmetro, os canais eferentes 0,025 mm de diâmetro, abrangendo sua extensão apenas 0,35 a 0,40 mm. Não vimos uma peça central que unisse as bases dos dois receptáculos.

Colorido — O colorido das três espécies é bastante uniforme. É necessário adquirir-se experiência pela comparação de grande número de exemplares, a fim de poder distinguir-se o que é privativo de uma espécie.

Em tôdas as espécies há de comum o seguinte: a fronte, as quelíceras e o lábio são de côr de ferrugem; os rebordos anteriores do lábio e das apófises maxilares, em tôrno do lábio, são amarelo-claros; o ventre é amarelo sujo; o dorso do abdomen cinza escuro.

Particularidades coloridas da espécie A — Há no cefalotórax, em machos e fêmeas adultos, dos lados e por detrás da fronte, uma grande mancha central amarela, que se destaca nìtidamente das bordas laterais, que são marrons. Esta mancha clara de espalha geralmente ao longo das estrias irradiantes, de maneira que surge uma figura de estrêla de seis pontas. Fêmur e patela dos palpos, a coxa das pernas e o esterno são amarelo-cinza; a tíbia e o tarso dos palpos, o lábio, os metatarsos e tarsos das pernas são amarelo-marrons. O metatarso do primeiro par de pernas dos machos é reto. O bulbo dos machos é avermelhado. Em filhotes apenas a ponta do tarso dos palpos é marrom, o resto amarelado.

Colorido particular da espécie B — Cefalotórax sem a figura "estelar" mais clara, mas todo êle marrom. Fêmur e patela dos palpos amarelos, tíbia e tarso vermelhos. As pernas são amareladas ou mesmo esverdeadas, com pêlos negros, escurecendo em direção apical, apresentando-se os metatarsos e tarsos marrons; na face anterior apical dos fêmures do primeiro par de pernas há uma mancha avermelhada. O metatarso dos machos das pernas I é ligeiramente curvo. Em filhotes todo o palpo é amarelo.

Colorido particular da espécie C — Cefalotórax de colorido uniforme como na espécie B. Todo o palpo é avermelhado. O êmbolo dos machos é negro; o bulbo amarelo. As pernas apresentam colorido uniforme, marrom. A tíbia do palpo dos machos é ligeiramente escavada na face superior.

Em aranhas conservadas em álcool mesmo por pouco tempo, esmaecem os tons de ferrugem, o vermelho e o cinza. Quanto maior fôr o tempo de conservação em meio alcoólico, tanto mais a aranha se apresenta com uma tonalidade única, amarelada.

Dimensões e posição dos olhos, revestimento piloso nas pernas, no abdomen e no cefalotórax são uniformes nas três espécies. Não há espinhos nas pernas, mas apenas pelinhos curtos e cerdinhas mais longas. As últimas estão dispostas em oito fileiras longitudinais, duas superiores, duas inferiores, duas laterais anteriores e duas laterais posteriores nos fêmures, nas tíbias e nos começos dos metatarsos das pernas. As quatro garras terminam em oníquo, no qual se inserem as duas garras, que têm um número decrescente de dentes da frente para trás, isto é, cêrca de onze a doze dentes na primeira, nove a dez, na segunda, seis na terceira, e quatro e cinco na quarta perna.

Nome científico das três espécies

Em todo o abundantíssimo material estudado, procedente do Chile, Perú, Uruguai, da Bolívia, Argentina e de várias dezenas de localidades do Brasil, que oferecem, portanto, um perfil verdadeiro e fiel sôbre os Loxoscelídeos realmente existentes no grande sub-continente, encontramos apenas estas três espécies, e nada mais. As mesmas oferecem nítida distinção morfológica, que não deixam dúvidas, desde que se possa examinar sob a lupa, pelo menos um macho e uma fêmea adulta, aferindo-se todos os caracteres, apontados em nosso trabalho como decisivos.

Os palpos dos machos e os receptáculos seminais das fêmeas adultas, isto é importante, permitem sòzinhos uma perfeita identificação de qualquer espécime e podem ser aferidos também em exemplares conservados por longo tempo em meio alcoólico.

A nossa espécie A, representada no tocante ao palpo do macho pela Fig. 1 — a-b-c-d — e aos receptáculos seminais e arcadas genitais pela Fig. 4 — a-b-c —, não é outra, senão a *Loxosceles rufescens* (Dufour) 1820, genotípica. Dufour descrevera um macho, capturado perto de Sagunto, na província de Valência, na Espanha. Andouin descreveu uma fêmea do Egito (1927). Walckenaer assinalou em 1837, que o segundo par de pernas era o mais longo, o que coincide com a nossa fórmula. Lowe fêz em 1835 um diagnóstico sumário de macho e fêmea, sob o nome de *Loxosceles citigrada.*

A espécie fôra mal descrita; tipos e paratipos estão perdidos; tornou-se irreconhecível quase, passando a chamar-se sucessivamente pelos nomes genéricos de

Scytodes, Omosita, Spermophora e finalmente *Loxosceles*. Seus nomes específicos variavam ainda mais, desde *erythrocephala* Koch, 1937, *pallida* Blackwall 1865, *comoroensis* Butler 1879, *citigrada* Lowe, *marylandica* Muma 1944, firmando-se finalmente o velho nome *rufescens*, conforme a diagnose de um macho, feita por Simon, em 1873. Keyserling reexaminou exemplares em 1887 e disse que o segundo par de pernas era visìvelmente mais longo que o quarto; as tíbias dos palpos do macho eram curtas e muito infladas. Houve redescrições da espécie, sumárias ou mais detalhadas por Marx, 1890, Simon, 1893, Banks, 1904, Bösenberg e Strand, 1906, Petrunkevitch, 1911 (catálogo), Reimoser, 1913, Simon, 1914. Chamberlin afirmou em 1916 que numerosos exemplares de ambos os sexos foram capturados em Huadquina, Perú, a 5.000 pés de altura e que a espécie era muito freqüente nos dois hemisférios; Strand 1918, Petrunkevitch 1929, Bristowe 1938, Roewer 1942 (catálogo), Bonnet 1954 (catálogo).

Gertsch (4) fêz uma diagnose minuciosa de uma fêmea, capturada em Alto Douro, Portugal, com a seguinte fórmula de pernas — 2,4 = 1,3 (a diferença de comprimento entre a quarta e a primeira perna é menos de meio milímetro) e com receptacula seminalia, reapresentados pela ilustração N.º 73. cuja exatidão não nos cabe julgar. O macho redescrito era de Roma, Itália, com a mesma fórmula de pernas que a fêmea, havendo apenas 5 centésimos de milímetro entre a perna 1 e 4. As figuras 60-62 representam diversos aspectos do palpo do macho, êste de Atlanta, na Georgia, U.S.A., que coincidem singularmente com a nossa espécie A (Fig. 1).

Bücherl (6) redescreveu o macho e fêmea, tendo à mão várias centenas de exemplares, capturados em diversas localidades do Brasil, sob o nome de *L. rufescens*. Segundo aquela diagnose, feita em 1961, o segundo par de pernas é significativamente mais longo que o primeiro e quarto; o primeiro par ora é um nada mais longo (não significativamente) que o quarto — é o caso mais freqüente — ora os dois pares são de igual comprimento ou o quarto par é um nada mais longo que o primeiro (não significativamente) — o que é raro.

Os exemplares sul-americanos estão, pois, perfeitamente enquadrados no tocante à fórmula das pernas sob *L. rufescens*, que é espécie cosmopolita.

A esta espécie pertencem também os Loxoscelídeos, capturados em Iguape, no litoral sul do Estado de São Paulo e descritos por Mönkhaus, em 1898 (7) sob o nome de *Loxosceles similis*. A fórmula das pernas de um macho (2, 4, 1, 3) e o aspecto dos artículos do palpo do macho, representado na ilustração N.º 7 da estampa V, conforme a qual o fêmur é cêrca de quatro vêzes mais longo que largo, a tíbia curta, inflada, apenas mais longa que larga, o tarso, um nada mais longo que a tíbia, bem mais longo que largo. inserindo-se o bulbo na metade basal do tarso e o êmbolo retorcido, não permitem dúvidas. Além disso. reexaminamos um lote N.º 1.759. capturado no local típico, que se tem revelado como *L. rufescens*.

Com a nova posição de *L. similis* Mönckaus 1898 como sinônima de *L. rufescens* (Dufour) 1820 cai por terra uma boa parte das argumentações de Simon (1927), de Mello-Leitão, 1918 e 1934, que tinham pôsto esta espécie em sinonímia com *L. laeta* (Nicolet) e, conseqüentemente, tinham afirmado que *laeta* existia em quase tôda a América do Sul.

A esta espécie pertence ainda *Loxosceles surata* Simon 1907 (1). Simon diagnosticara um macho, capturado em Minas Gerais, Brasil: "...tibia valde inflata (fere ut in *L. rufescenti*), vix ¼ longior quam latior (Fig. — d); bulbo depressiuculo; tarsus pedum maxillarium ovatus, longior quam latior; spina apicali longa et curvata usque ad basin gracilis". Esta descrição concorda perfeitamente com as medidas das tíbias, dos tarsos, do êmbolo e bulbo, dadas por Gertsch (4) e nós (6) para *L. rufescens*. Em 1918, Mello-Leitão (2) ainda não tinha visto esta espécie, repetindo neste trabalho apenas as descrições de Simon; em 1934 (3) redescreveu macho e fêmea, embora a caracterização da fêmea tenha sido totalmente confusa, baseada sôbre a ausência ou presença de escópulas na face inferior dos tarsos e metatarsos e da forma peculiar da margem posterior da região cefálica. Êstes aspectos variam de indivíduo para indivíduo. O autor forneceu, entretanto, uma ilustração muito boa do palpo do macho, visto de perfil e que é a reprodução exata do que foi desenhado por Gertsch e por nós para *L. rufescens*. Diga-se de passagem que Mello-Leitão estava, ainda em 1936, tão desorientado sôbre a sistematização de *Loxosceles*, que diagnosticou dois espécimes, os de N.os 278 e 280, capturados pelo mesmo senhor Sílvio Burinam, no mesmo local, Corumbataí, no mesmo dia 18/9/1935, como sendo, respectivamente, *L. laeta*, 1 exemplar e *hirsuta* o segundo, embora fôssem em realidade *L. rufipes*.

À nossa espécie B cabe, por antiguidade e direito, o nome de *Loxosceles rufipes* (Lucas) 1834. Lucas diagnosticara apenas uma fêmea, capturada em Guatemala, em que os trocânteres, fêmures e patelas eram marrom-amarelados, as tíbias e os tarsos dos palpos, respectivamente os metatarsos e tarsos das pernas eram avermelhados; o quarto par de pernas era o mais longo. Tudo isto vem coincidindo com a nossa espécie B, a fêmea. Em 1849, diagnosticou Nicolet uma outra fêmea desta espécie, capturada nos arredores de Santiago do Chile, com a seguinte fórmula de pernas — 8,5 — 9-8-10 lineas, portanto, exatamente a mesma fórmula da nossa, dizendo expressamente que se tratava da mesma espécie de Lucas, diferente de *laeta*. Simon, Mello-Leitão e outros, confundidos pela *L. similis*, puseram a *rufipes* de Santiago em sinonímia com *laeta*, o que está positivamente errado e não foi reconhecido por Keyserling e outros. Keyserling (8) fêz em 1877 uma diagnose minuciosa de uma fêmea, do Uruguai: ...pernas marrom-amareladas com uma mancha avermelhada na base anterior do fêmur do primeiro par e nos metatarsos e tarsos, principalmente das pernas anteriores. Pernas e palpos de animais jovens são amarelados. Pernas cobertas densamente por pelinhos delicados, dispostos em fileiras regulares. Fórmula das pernas — 4,2,1,3. Esta fórmula e o colorido, descrito em minúcias, coincidem espetacularmente com a nossa espécie B.

Keyserling (9) assinalou em 1891. que numerosos exemplares desta espécie foram capturados por von Ihering e por êle estudados no Rio Grande do Sul, Brasil; Mönckaus (7) capturou exemplares em São Paulo, no bairro do Ipiranga. No antigo registro de aracnídeos do atual Departamento de Zoologia, antigo Museu Ipiranga, em São Paulo, consta a aranha N.º 631, de Iguape, colecionada em 24/13/1898 e identificada por Mönckhaus como *L. rufipes;* em 1918, Mello-Leitão diagnosticou-a como *L. laeta.* O exemplar, provàvelmente uma fêmea, está desaparecido. Simon (1) forneceu a primeira diagnose do macho: "Tibia fere duplo longior quam latior, subtus valde convexa (fere ut in *L. rufescenti*); tarsus transversus, multo latior quam longior, intus prominulus et obtusissmus; bulbo depressiuculo, spina apieali longa et curvata ad basin gracili. Espèce très répandue dans le Sud des États-Unis, l'Amérique Centrale et Méridionale."

Mello-Leitão (2) repetira em 1918 a caracterização dada por Simon, deixando impressionar-se pelo "subtus valde convexa", com que Simon caracterizava a tíbia do macho. "Subtus" significava para Mello-Leitão a parte apical ou basal da tíbia. Em 1934 (3) ilustrou e recaracterizou o palpo do macho, fazendo uma lamentável confusão com *L. surata*: "tíbia no máximo vez e meia mais longa que larga; tarso pouco saliente além do bulbo; estilete menos recurvo; tíbia mais "espessa" na "base". Embora dissesse, então, que a espécie se encontrava no Rio Grande, em São Paulo. talvez em São João d'El Rey (local típico de *surata*) e em tôda a América, nunca mais a pôde identificar, pois confundira-a com *surata*, tornando-se responsável perante os autores estrangeiros, que os mesmos julgassem que *rufipes* não se eneontraria na América do Sul, como afirmou Gertsch (4), em 1958.

Gertsch fêz em 1958 redescrições de macho e fêmea completamente novas (..."new appraisal"), não dando mais importância à primeira diagnose de Lucas, nem à fórmula de pernas. dada por Nicolet, nem à redescrição de Keyserling. Serviu-se de exemplares (poucos) recebidos de Panamá e Guatemala, ao todo de 4 fêmeas e 4 machos, conservados já há 13 anos em álcool e procedentes de três localidades diferentes. A fórmula das pernas dos machos seria — 2,1 = 4,3 e das fêmeas 2,4 = 1 = 3. A fêmea deve ter sido um filhote ainda. O fêmur do palpo do macho é cêrca de 7 vêzes mais longo que largo, a patela 2 vêzes mais longa que larga, a tíbia 2,5 vêzes mais longa que larga, o tarso um pouco mais largo que longo, o êmbolo excede em cêrea de 3 vêzes o comprimento do bulbo, sendo mais longo do que bulbo e tarso juntos. As medidas dos artículos do palpo concordam com as de nossa espécie B. Apenas Gertsch teve pouco material comparativo. Em 1961 (6) diagnosticamos macho e fêmea, insistindo então, no metatarso flexuoso do primeiro par de pernas dos machos, na fórmula de pernas — 4,2,1,3 (em concordância com Nicolet, Keyserling, etc.).

À esta espécie é idêntica a *Scytodes nigella* Nicolet 1849, de Santiago do Chile. com a mesma fórmula de pernas — 4,2,1,3; a *Omosita bicolor* Holmberg 1876, que, segundo seu autor, é "muy abundante, la hemos tomado repetidas veces.

Todo el animal es de un color pardo o ceniciento oscuro. Vive por lo regular en las casas, a la sombra, entre los muebles o detrás de ellos, muchas veces entre ropas". Fizemos um reexame em um lote, machos, fêmeas e filhotes, recebidos de Buenos Aires, localidade típica de *bicolor*, por gentileza de Adalberto Ibarra Grasso e catalogados na coleção do Instituto Butantan, sob o nN.º 1686 e vimos que se trata indubitàvelmente de *L. rufipes* (Lucas); a *Loxosceles taeniopalpus* Simon 1907, de Loja, província de Amalazula, no Ecuador: ..."Tibia pedum maxillarium plus triplo longior quam latior, superne visa fere parallela et femore non multo latior". Pela ilustração, que acompanha a descrição da espécie, conclui-se que tarso, bulbo e êmbolo são iguais à espécie que Simon chamou de "*laeta*" e que não é outra, senão o macho de *rufipes* (Lucas), a *Loxosceles hirsutus* Mello-Leitão 1931. O autor fêz esta espécie com uma única fêmea, capturada em Pedras Altas, município de Cacimbinhas, no Rio Grande do Sul. Na descrição não deu nenhuma medida das pernas, mas apenas o colorido geral e o revestimento piloso, que é totalmente falho para a especificação (10). Em 1934 (3) voltou à mesma espécie, sem dizer nada de novo. Comparamos o paratipo, classificado por Mello-Leitão e depositado na coleção do Instituto Butantan, sob o N.º 280 e vimos tratar-se de *Loxosceles rufipes*.

A terceira espécie deverá chamar-se de *Loxosceles spadicea* Simon 1907. Simon descrevera o primeiro macho da seguinte maneira: "Pedes maxillares castanei, tibia paulo plus duplo longiore quam latiore, subtus in parte apicali leviter convexa, bulbo apicem versus sensim attenuato, spina apicali parva curvato-sinuosa munito". A ilustração de Nº c — do trabalho de Simon, apresenta uma vista de perfil da tíbia, do tarso, bulbo e êmbolo do palpo, mostrando que o tarso é mais longo que largo e que o bulbo se insere basalmente no tarso, de maneira que êste sobrepassa o bulbo. O local do tipo é Yungas, no chaco da Bolívia. Mello-Leitão diagnosticou o macho, não sabemos sôbre que exemplares e elucidou, em 1934 (3) alguns dados de Simon: "Tíbia cêrca de 2 vêzes mais longa que larga e cêrca de 2 vêzes mais longa que a patela ou o tarso, mais espêssa em seu quinto apical; tarso prolongado além da inserção do bulbo; êste mais longo que largo; estilete recurvo em S". Tudo isto coincide extraordinàriamente com a nossa espécie C, ilustrada pela figura 3-*a*. Mello-Leitão deu como habitat Bolívia, Perú e Argentina, províncias de Salta e Rosario de la Frontera.

O que neste trabalho está sendo dito sôbre as fórmulas das pernas, o colorido dos machos, elucida melhor a descrição por Simon, que nada tem revelado a respeito. A nossa caracterização da fêmea é inteiramente nova, pois nenhum autor até agora descrevera fêmeas.

A espécie é idêntica à *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão 1934 (3), capturada em Petrópolis, Estado do Rio de Janeiro. A simples comparação entre a chave descritiva dos machos, feita por Simon em 1903, por Mello-Leitão em 1934 e por nós, neste trabalho e o confronto das ilustrações sôbre *spadicea* (Simon),

sôbre *intermedia* (Mello-Leitão) e sôbre a nossa terceira espécie (Fig. 3) impõem a conclusão sôbre a identidade de *intermedia* com *spadicea*.

Idêntica a *spadicea* é ainda *Loxosceles ornata* Mello-Leitão 1938 (11) e 1941 (12). Em 1938, Mello-Leitão diagnosticou uma fêmea, capturada em Cabana, província de Córdoba, Argentina, com a fórmula das pernas 2,4 = 1 = 3, palpos marrons, colorido, idênticos a *spadicea*.

Em 1941, veio pelo mesmo autor, a diagnose de um macho, comum em Cabana, Potrerp de Loza, Agua de Oro e La Falda, província de Córdoba. Não forneceu as medidas das pernas, mas em compensação descreveu minuciosamente o palpo, ilustrando-o pela figura 2, cuja patela é cêrca de 2 vêzes mais longa que larga, mais espêssa apicalmente, a tíbia é 3 vêzes mais longa que larga, também mais espêssa no quinto distal; o tarso é mais longo que largo, sobressaindo além do bulbo; o êmbolo é espiralado.

Em 1961 (6) já salientamos a sinonímia de *ornata* com *spadicea*.

Posição sistemática das demais espécies sul-americanas

Loxosceles omosita (Walckenaer) 1837, de Guiana; pernas vermelho-escuras; o segundo par de pernas mais longo que o quarto. Não é *L. rufipes*, segundo fazem supor os catálogos de Petrunkevitch, 1911, de Roewer, 1946 e de Bonnet, 1952. Poderá ser ou *rufescens* ou *spadicea*. Precisa ser revista.

Loxosceles laeta (Nicolet) 1849, do Chile, sem indicação da localidade de captura. Fórmula das pernas da fêmea (a única até hoje descrita) — 4,1,2,3; olhos esverdeados, rodeados de negro; maxilares vermelhos, palpos amarelos, pernas regularmente manchadas de pontos escuros. Simon (1), em 1907, julgou ter descrito o primeiro macho desta espécie, dissertando apenas sôbre o palpo e as quelíceras e sem mencionar a localidade de captura, mas julgando-a igual a *L. similis* Mönkhaus 1899 e dando como habitat Chile, Argentina e Sul do Brasil. As quelíceras estariam cobertas de minúsculos grânulos. Era êste o caráter específico mais importante. "Tibia pedum maxillarium longissima, plus triplo longior quam latior; chelae antice granulosae". A ilustração do palpo em nada diferencia êste macho do de *rufipes* (Lucas). Pelas nossas medições das tíbias dos palpos dos machos de *rufipes* aparece claramente que estas podem ser 2 a 3 vêzes mais longas que largas. É falha a chave específica de Simon, que pretendeu poder separar as espécies, cuja tíbia seria 3 vêzes ou apenas 2½ vêzes mais longa que larga. Há variação dentro da mesma espécie, que engloba tôdas estas medidas. A espécie seria freqüente no Chile, Argentina e no sul do Brasil. Em todo o abundante material examinado, só encontramos a *rufipes*, não mais a *laeta*. Mello-Leitão (2) redescreveu dois exemplares, de Iguape, como sendo *laeta* (Nicolet), sem dar as medidas das pernas, mas insistindo: "...quelíceras quase inteiramente co-

bertas de grânulos grossos, negros, desiguais, dispostos sem ordem". Em 1934 (3) retratou-se, dizendo: "As granulações negras das quelíceras resultam apenas da queda de pêlos e não têm valor diagnóstico que Simon, em 1907, lhes atribuíra". A redescrição e a ilustração do palpo do macho, fornecidas neste ano, são perfeitamente idênticas a *L. rufipes.* A nossa revisão dos espécimes de Loxoscelídeos, classificados por Mello-Leitão como "*loeta*" (não "*laeta*") nos convenceu, sem sombra de dúvida, de que êle (e Simon) descreveram o macho de *rufipes* (Lucas) como sendo o macho de *laeta* (Nicolet). Ambos estão errados. A presença de grânulos negros nas quelíceras é sinal da ausência dos pêlos e da longa conservação em álcool; que a tíbia do palpo do macho seja 3 vêzes mais longa que larga, é comum em *rufipes.*

Gertsch (4) redescreveu macho e fêmea de "*laeta*", com diagnósticos aliás muito perfeitos e com ilustrações do palpo do macho e dos receptáculos seminais da fêmea. Apenas a "*laeta*" de Gertsch não é a *laeta* de Nicolet, mas sim a *rufipes* (Lucas), tão bem redescrita por Keyserling, em 1877 e em nosso trabalho. É significativo que no próprio dizer de Gertsch, o local típico de *rufipes* (Lucas) é a Guatemala e uma boa parte de sua "*laeta*" seja da mesma Guatemala: "Guatemala city, males and females, San Pedro, Yepocapa, immature, Chichicastenango, immature". Ainda é significativo que Gertsch tenha colocado a *rufipes* e a *nigella* em sinonímia com a *laeta*, quando o autor de *nigella* a viu diferente de *laeta* (de fato, é *rufipes*) e quando Nicolet disse expressamente, que êle apenas estava redescrevendo a *rufipes* de Lucas.

A posição de *Loxosceles laeta* (Nicolet) 1849 foi por nós elucidada em 1960 (12) e 1961 (6). Se existir, é uma espécie boa, com fórmula de pernas completamente nova, diferente da das 3 espécies até agora bem definidas, isto é, 4,1.2,3. Isto justifica uma espécie nova. Há mister, entretanto, que se encontrem novos exemplares, que façam jús à descrição original de Nicolet.

Loxosceles lutea Keyserling 1877 (8), uma fêmea, Santa Fé de Bogotá, Colômbia; fórmula das pernas, 4 = 2,1.3. Seria a quinta espécie boa do gênero. Julgamos idêntica à esta a *Loxosceles unicolor* Keyserlig 1887 (13), um macho, de Punta del Agua, Novo México, com fórmula de pernas idêntica. As fórmulas de pernas que Gertsch (4) atribuíra à *unicolor* nada mais têm a ver com a descrição original, tão detalhada, dada por Keyserling.

Idêntica com *L. lutea* é ainda a *L. pictithorax* Strand 1914, uma fêmea sumàriamente descrita, de Bogotá, o mesmo local de *lutea.*

Loxosceles variegata Simon 1897 (14), uma fêmea, filhote ainda, San Pedro, Paraguai. Sem descrição alguma. Nomen nudum.

Loxosceles longipalpis Banks 1908, uma única fêmea, sumàriamente diagnosticada. Ilhas dos Galapagos.

Loxosceles accepta Chamberlin 1920 (15); diagnose deficiente de macho e fêmea, Huadquina, Perú. A descrição da forma do palpo do macho e as medidas das patelas e tíbias das pernas parecem indicar, que esta espécie pertence a *L. lutea* Keyserling, o que poderá ser decidido pela revisão do material de Chamberlin e a competente redescrição. O mesmo se diga de *L. nesophila* Chamberlin, 1920, de Lobos de Tierra, Perú, que, segundo o autor, se diferenciaria de *accepta* apenas pela posição dos olhos — que não constitui caráter específico aproveitável.

Loxosceles flavescens Simon 1893 e 1896 — Nomen nudum.

Discussão

O grande número de material, minuciosamente estudado e proveniente de pontos geográficos, distantes entre si de milhares de quilômetros, mas que se deixa reunir fàcilmente e sem dificuldades maiores nas seguintes espécies:

Loxosceles rufescens (Dufour) 1820,
Loxosceles rufipes (Lucas) 1834,
Loxosceles spadicea Simon 1907 e
Loxosceles lutea Keyserling 1877,

comprova o acêrto das fórmulas das pernas, em machos e fêmeas, da cuidadosa aferição dos artículos dos palpos, principalmente da tíbia, do tarso, da inserção do bulbo e da forma do êmbolo em machos e do aspecto da arcada genital e dos receptáculos seminais das fêmeas, como caracteres decisivos da especificação dos Loxoscelídeos da América do Sul. No julgamento dos receptáculos seminais deve-se ter em mente que a forma dos mesmos pode mudar um tanto, de espécime para espécime, conforme a idade da aranha ou se estão cheios de líquido fecundante ou não. Além dos 3 tipos ilustrados em nossas figuras 4, 5 e 6, podem encontrar-se inúmeros outros aspectos, que divergem em minúcias. Certamente foi isto, que levou Gertsch (4) a descrever inúmeras espécies novas para a América do Norte e as Antilhas, espécies estas que, a rigor, poderão ser consideradas, no máximo, como sendo apenas *populações* regionais. Esta nossa suspeita encontra sua plena confirmação quando se consideram as ótimas ilustrações dos receptáculos seminais e dos palpos dos machos, que acompanham o trabalho de Gertsch. Há muitas semelhanças, quase que identidades, entre espécies ditas como novas.

A conclusão de Gertsch, de que as fórmulas das pernas: "...are very useful for separation of species of "restricted" areas, but they are subject to "great variation" within each species", sugere-nos as seguintes considerações: não temos constatado esta variação em tôda a América do Sul, mesmo através de regiões distantíssimas, como se dá no caso de *Loxosceles rufipes*, de que temos estudado exemplares do Perú, do Chile, da Bolívia, da Argentina, do Uruguai e de dezenas de localidades do Brasil.

Por outro lado procedeu Gertsch com demasiado rigor nas medições dos artículos das pernas, aferindo mesmo centésimos de milímetro, o que não julgamos necessário, nem mesmo aconselhável. O que interessa não é o comprimento real da perna, que varia de espécime para espécime, mas a relação real dos comprimentos das pernas entre si, isto é, a verificação, qual das quatro pernas é a mais longa, quais são as pernas que têm mais ou menos comprimento igual. Dois ou três décimos de milímetro podem mesmo ser desprezados, como ressalta significativamente das médias aritméticas das fórmulas das pernas das três espécies minuciosamente aferidas. Mesmo assim constata-se que entre *rufescens* e *spadicea* não há diferença na fórmula das pernas, embora se diferenciem fàcilmente pelos receptáculos seminais das fêmeas e os palpos dos machos.

Quanto às descrições e excelentes ilustrações, feitas por Gertsch (4) em 1958, dos palpos e dos machos, devemos confessar com franqueza, que não conseguimos distinguir diferença alguma entre *L. reclusa* e *devia* (il. 21-23 e 24-26), entre *arizonica* e *unicolor* (il. 27-29 e 30 a 32), entre *yucatana* e *zapoteca* (il. 33-25 e 36 a 38), entre *boneti* e *bolivari* (il. 39-41 e 42-44). Suas ilustrações dos receptáculos seminais das fêmeas não nos convencem; deve ter havido qualquer êrro técnico de preparação. Não é possível que haja espécies com seis receptáculos, como seria o caso com *L. arizonica* (Fig. 90), com quatro receptáculos (Fig. 94), *L. yucatana* ou que os dois receptáculos das demais espécies tenham no lado do canal eferente ou na peça quitinizada basal, um ou mais minúsculos tubos "cegos". Para que? Qual seria a sua função? Como se explicaria a transmissão do líquido espermático, se o êmbolo é sempre o mesmo? Em todos os exemplares sul-americanos temos constatado invariàvelmente a máxima uniformidade no tipo de construção dos genitalia das fêmeas, nìtidamente diferenciáveis entre as três espécies. Não pretendemos diminuir com estas observações os trabalhos de Gertsch. A êle cabe indubitàvelmente o grande mérito de ter sido pioneiro a chamar a atenção dos estudiosos sôbre o valor específico dos genitalia das fêmeas na especificação de *Loxosceles*. Insistimos apenas, que êle foi longe demais, aferindo caracteres populacionais. As suas "espécies" seriam na realidade apenas populações.

Politipismo das espécies

Julgamos conveniente que se estabeleçam diversos *tipos* regionais paar cada uma das espécies, como Levi tem feito com as espécies de *Latrodectus*. Aliás apresenta o gênero *Loxosceles* um impressionante paralelismo com *Latrodectus*, seja no tocante à distribuição geográfica nas Américas, como em relação a seu habitat e alguns importantes costumes de vida.

Para *L. rufescens* haveria os tipos na Europa do Sul, para a África do Norte, para a América do Sul. Para o último sub-continente valeria o tipo, estabelecido por Simon para *L. surata*.

Para *L. rufipes* deve ser feito um neo-tipo para Guatemala, para o Chile, para a Argentina, o Brasil, para Guatemala e Honduras. Para as duas últimas regiões serviriam os exemplares que Gertsch designou como "*laeta*".

Para *L. spadicea* serve o mesmo tipo de Simon para a Bolívia, o tipo de *intermedia* para o Rio de Janeiro, o tipo de *ornata* para a província de Córdoba, Argentina.

Para *L. lutea* pode empregar-se o tipo de Keyserling para Bogotá, Colômbia, o tipo de Keyserling — *unicolor*, para Novo México.

Chave sistemática das espécies sul-americanas

1 { O segundo par de pernas mais longo que o primeiro e o quarto par; o primeiro e o quarto par aproximadamente iguais ou ora o primeiro ora o quarto par um nada mais longo. Tarso do palpo do macho, visto dorsalmente, mais longo que largo, sobressaindo além da inserção do bulbo; êmbolo torcido em serpentina 2

O quarto par de pernas mais longo que o primeiro, apenas pouco mais longo ou igual ao segundo. Tarso do palpo do macho, visto de cima, aproximadamente tão longo quanto largo, não sobressaindo sensivelmente além do bulbo. Êmbolo não serpentiniforme, mas recurvo ou quase direito .... 3 }

2 { Tibia do palpo do macho curta, muito inflada, no máximo uma vez e meia mais longa que larga, com a maior largura mais ou menos no meio do artículo; tarso quase tão longo quanto a tibia; fêmur cêrca de quatro vêzes mais longo que largo. Genitália da fêmea consistindo em arcada genital dupla (visível, quando se distende a fenda genital) e em arcada porta-receptáculos. Os dois receptáculos seminais com forma de cachimbo, com vasos eferentes curtos e retos.

Loxosceles rufescens (Dufour) 1820

Tibia do palpo do macho longa, não inflada, dorsalmente reta ou um pouco escavada, espêssa apicalmente, cêrca de três vêzes mais longa que larga; tarso cêrca de duas vêzes mais curto que a tibia; fêmur cêrca de seis a sete vêzes mais longo que largo. Fenda genital da fêmea muito larga; arcada superior pràticamente invisível; sem arcada porta-receptáculos; os dois receptáculos seminais pequeníssimos, reduzidos a dois delicados canais curvos ou serpentiniformes, com pequena vesícula apical.

Loxosceles spadicea Simon 1907 }

3 { Quarto par de pernas mais longo que o segundo; êste mais longo que o primeiro; tibia do palpo do macho três a cinco vêzes mais longa que larga, com a maior largura aproximadamente no meio, estreitando-se apicalmente; êmbolo recurvado em todo o seu percurso; tarso visto apicalmente tão longo quanto largo, às vêzes um nada mais largo que longo; fêmur cêrca de oito vêzes mais longo que largo. Metatarso do primeiro par de pernas do macho ligeiramente flexuoso. Receptáculos seminais da fêmea sob a forma de dois "dedos" longos, quase retos, que terminam em uma ampola apical.

Loxosceles rufipes (Lucas) 1834

O quarto par de pernas igual ao segundo; ambos mais longos que o primeiro par; tibia do palpo do macho ventralmente inflada, dorsalmente reta, cêrca de 2,5 a 3,5 vêzes mais longa que larga; êmbolo quase direito; tarso tão longo quanto largo ou um nada mais largo que longo.

Loxosceles lutea Keyserling 1877 }

Sinonímia das espécies estudadas

1. *Loxosceles rufescens* (Dufour) 1820

Sinonímias: *Sc. erythrocephala* Koch 1837, *Sc. palida* Blackwall 1865; *comoroensis* Butler 1879, *L. citigrada* Lowe 1832/35, *marylandica* Muma 1944, *similis* Mönckhaus 1898, *aurata* Simon 1907, *laeta* Simon 1907 e Mello-Leitão, 1918 e 1934 (ad partem, no tocante ao macho de *similis*).

2. *Loxosceles rufipes* (Lucas) 1834

Sinonímias: *nigella* (Nicolet) 1849, *Omosita bicolor* Holmberg 1876; *laeta* Mello-Leitão 1918 e 1934, *laeta* Gertsch 1958, *taeniopalpus* Simon 1907, *hirsutus* Mello-Leitão 1931.

3. *Loxosceles spadicea* Simon 1907

Sinonímias: *L. intermedia* Mello-Leitão 1934, *L. ornata* Mello-Leitão 1941.

4. *Loxosceles lutea* Keyserling 1877

Sinonímias: *L. unicolor* Keyserling 1887, *L. pictithorax* Strand 1914.

Espécies a serem reestudadas

Loxosceles omosita (Walckenaer) 1837; Guianas);
Loxosceles laeta (Nicolet) 1849; (Chile);
Loxosceles longipalpis Banks 1908; (Ilhas Galapagos);
Loxosceles accepta Chamberlin 1920; (Huadquina, Perú);
Loxosceles nesophila Chamberlin 1920; (Lobos de Tierra, Perú).

Conclusão

É perfeitamente possível determinar-se a espécie certa de qualquer *Loxoscelídeo adulto*, capturado na América do Sul, usando-se os critérios diferenciais dos palpos dos machos, dos receptáculos seminais das fêmeas e a fórmula das pernas, apontados na chave sistemática dêste trabalho. Como critério secundário convém observar-se o colorido do cefalotórax, dos artículos dos palpos e das pernas e a forma do metatarso do primeiro par de pernas dos machos. Para filhotes há apenas o recurso único das fórmulas das pernas, pois nem o colorido é igual aos adultos.

Agradecemos ao Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan pelo auxílio prestado.

RESUMO

De várias dezenas de exemplares jovens e adultos de *Loxoscelídeos* machos e fêmeas, recebidos de diversas localidades do Brasil, Uruguai, Chile e Perú, da Argentina e Bolívia, foram aferidas as medidas das pernas e o colorido geral; dos machos adultos foram medidos os artículos dos palpos, o bulbo e êmbolo, prestando-se atenção especial, se o último é reto, curvo ou serpentiniforme, longo ou curto; nas fêmeas adultas foram dissecados os receptáculos seminais e as arcadas genitais.

À mão dêste abundante material, conseguiu-se comprovar que tanto os palpos do macho como a forma dos receptáculos seminais da fêmea e a fórmula das pernas em ambos os sexos, podem e devem ser considerados como rigorosamente específicos, permitindo que se coloque qualquer aranha dêste gênero na espécie certa. Certas nuanças de colorido e a presença ou ausência de ligeira curvatura no metatarso do primeiro par de pernas em machos, constituem caracteres menos importantes, mas também de valor secundário.

As dimensões dos seis olhos, as distâncias interoculares, o recuo do par anterior e dos dois pares posteriores da fronte, respectivamente das margens e da linha mediana do cefalotórax, o revestimento piloso da face inferior dos tarsos e metatarsos, a forma triangular, pentagonal ou arredondada, com que a parte cefálica costuma ser delimitada contra a porção torácica, foram igualmente estudados em lotes, procedentes do mesmo local de captura, chegando-se à conclusão que não possuem valor sistemático.

Do vasto material, objeto dêste trabalho, fêz-se uma chave sinóptica específica, que abrange machos, fêmeas adultos e filhotes, distribuídos para apenas quatro espécies sul-americanas bem definidas, a *Loxosceles rufescens, rufipes, spadicea* e *lutea*. *Loxosceles omosita* e *L. laeta*, ambas com fórmulas de pernas, que as diferenciam sem sombra de dúvida das quatro estudadas, são, por isso mesmo, reconhecidas como espécies boas, aguardando, porém, novas capturas, cujo estudo virá confirmar ou não sua posição sistemática. *L. longipalpis, accepta* e *nesophila* devem ser reestudadas, segundo os três critérios acima citados. As demais espécies descritas do sub-continente sul-americano, catorze ao todo, são colocadas em sinonímia com as quatro espécies, *rufescens, rufipes, spadicea* e *lutea*, ou declaradas como — nomina nuda.

SUMMARY

The general color, as well as the measures of the legs were closely observed in many young and adult specimens of male and female *Loxosceles*, coming from different regions of Brazil, Uruguay, Chile, Peru, Argentina and Bolivia; the femur, patella, tibia, tarsus, bulbus and embolus of adult males were carefully measured, and special attention was paid to the embolu's curvature and length;

the receptacula seminalia and genital arches of the adult females were dissected and studied morphologically.

With plenty of material at hand, it was possible to prove that the palps of the male, as well as the receptacula seminalia form of the female and the legs formula of both sexes, can and should be considered as strictly specific, since their examination give sufficient information to place any spider of this genus in the right species. Some nuances in the color and the presence or absence of a slight curvature on the metatarsus of the first pair of male legs, have less important characteristics, but are of secondary importance.

The size of the six eyes, the interocular distances, the recoil of the anterior and of the two posterior pairs of the forehead, respectively from the sides and center line of the cephalothorax, the pilous covering of the inferior side of the tarsus and metatarsus, the triangular, pentagonal and round form, with which the cephalic part is generally delimited against the thoracic portion, were equally studied, according to the same capture place the animals arrived from, therefore, we came to the conclusion that they have no systematic value.

A specific synoptic key was made with the great amount of material studied in this paper which concerns young and adult males and females, distributed to only four well-defined South-American species, the *Loxosceles refuscens, rufipes, spadicea,* and *lutea. Loxosceles omosita* and *L. laeta,* both with leg formulas, which distinguish them without any doubt from the four species studied, therefore, they are known as good species, waiting, however, for new captures which will either confirm or not their systematic position. *L. longipalpis, accepta* and *nesophila* should be reexamined, according to the three criteria above mentioned. The other species described of the South-American sub-continent, 14 all told, are placed as synonyms with the four species, *rufescens, rufipes, spadicea* and *lutea,* or declared as — nomina nuda.

Zusammenfassung

Mehrere Dutzend von Spinnen der Gattung *Loxosceles* — SICARIIDAE, Männchen sowohl wie Weibchen und noch nicht Erwachsene, welche im Laufe von mehreren Jahren aus vielen Teilen Brasiliens, Uruguays, Argentiniens, Boliviens, Chiles and Perus nach Butantan gesandt worden sind, wurden in Bezug auf die Länge ihrer Laufbeine vergleichend untersucht; bei den Männchen wurden Femur, Patella, Tibia, Tarsus, Bulbus and Embolus genau gemessen und die Kurvatur des Embolus genau gemessen und die Kurvatur des Embolus besonders berücksichtigt, wie auch seine Länge; bei den Weibchen wurden die "receptacula seminalia" sowie die inneren Genitalbögen histologisch herauspraepariert und vergleichend morphologisch studiert.

An Hand dieses zahlreichen Materials konnte der Beweis erbracht werden, dass erwachsene Männchen und Weibchen sehr exakt nur durch die Palpen der

Männchen oder die "receptacula seminalia" der Weibchen artlich bestimmt werden können, wobei diesen Merkmalen auch ein besonderes Verhältnis der Laufbeinlängen entspricht. Gewissen, mehr oder weniger deutlichen Farbnuancen, kann eine sekundäre, spezifische Rolle nur bedingt eingeräunt werden. Sekundär artlich wichtig ist auch noch das Aussehen des Metatarsus des ersten Beinpaares bei den Männchen.

Die Grösse der Augen, der Abstand zwischen ihnen oder von den beiden vorderen zum Stirnrande oder zu den Seitenaugen, die Distanz letzterer von der Mittelritze des Cephalothoraxes und dem Seitenrande desselben, die Ausrüstung mit Haarpolstern auf der Unterseite der Tarsen und Metatarsen der Laufbeine, die dreieckige, runde oder fünfeckige Form, womit das Cephalon gegen das Thoracon abgegrenzt ist, wurden besonders an vielen Tieren desgleichen Fundplatzes vergleichend untersucht, wobei unwiederlegbar festgestellt wurd, dass allen diesen Merkmalen keinerlei spezifische Bedeutung zugemessen werden kann.

Mit dem zahlreichen südamerikanischen Material konnte ein Artenschlüssel aufgestellt werden, der sowohl Männchen, Weibchen wie auch Jugendformen erfasst und nach dem die *Loxosceliden* dieses Sub-Kontinentes in folgende vier Arten eingereiht werden: *Loxosceles rufescens*, *rufipes*, *spadicea* und *lutea*. Die beiden alten Arten, *L. omosita* (Walck.) 1837 und *L. laeta* (Nicolet) 1849 weisen, nach der eindeutigen Beschreibung ihrer Autoren, zwei neue Beinformeln auf, besonder *laeta*, dürften also zwei gute Arten abgeben, wenn sie wieder neu abgefunden und nach den hier angegebenen entscheidenden Merkmalen untersucht würden. *L. longipalpis* Banks 1908, *L. accepta* und *nesophila* Chamberlin 1920 sollten nach den hier angegebenen Merkmalen neu untersucht werden. Die übrigen 14, für Südamerika beschriebenen *Loxoscelesarten* wurden als Synonym mit *rufescens*, *rufipes*, *spadicea* und *lutea* und zwei als "nomina nuda" erkannt.

Bibliografia

1. *Simon, E. — Ann. Ent. Soc. Belgique,* **51**:246-264, 1907.
2. *Mello-Leitão, C. de — Rev. Mus. Paulista,* **10**:123-144, 1918.
3. *Mello-Leitão, C. de — An. Acad. Bras. Sci.,* **6**:69-79, 1934.
4. *Gertsch, W. J. Americ. Mus. Novitates,* **1907**:1-46, 1958.
5. *Gertsch, W. J., Mulaik — Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.,* **77**:315-318, 1940.
6. *Bücherl, W. — Ciência e Cultura,* **13**(4):213-224, 1961.
7. *Mönkhaus, W. J. — Rev. Mus. Paulista,* **3**:77-112, 1898.
8. *Keyserling, E. — Verh. Zool. Bot. Ges. Wien,* **27**:214-215, 1877.
9. *Keyserling, E. — Bras. Spinnen,* **3**:167, 1891.
10. *Mello-Leitão, C. de — Boletim Biológico,* **2**:12, 1931.
11. *Mello-Leitão, C. de — Rev. Mus. La Plata (Zool.),* **1**(4):91, 1938.
12. *Mello-Leitão, C. de — Rev. Mus. La Plata (Zool.),* **2**:107-108, 1941.
13. *Bücherl, W. — Bol. Chileno Parasit.* **15**(4):73-77, 1960.
14. *Keyserling, E. — Verh. Zool. Bot. Ges. Wien,* **37**:474, 1887.
15. *Simon, E. — Boll. Mus. Torino,* **12**(270):5, 1897.
16. *Chamberlain, R. — Brookl. Mus. Sci. Bull.,* **3**(2):39-41, 1920.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS ARACNÓIDES PEÇONHENTOS TEMÍVEIS

(CLASSE *ARACHNOMORPHA*, SUB-CLASSE *ARACHNOIDEA*, ORDENS *SCORPIONES* E *ARANEIDA*)*

WOLFGANG BÜCHERL

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

INTRODUÇÃO

Para a perfeita compreensão dêste trabalho, devemos esclarecer que existem alguns *Aracnoides* completamente não venenosos. A imensa maioria, entretanto, é *ativamente peçonhenta*, com um par de glândulas veneníferas e um aparelho vulnerante, inoculador da peçonha. Felizmente, porém, é a grande maioria dêste grupo tão pouco intoxicante, ou tão raro, que não vem a constituir problema médico. Uns e outros não são objeto desta exposição, que considera apenas aquêles representantes temíveis do segundo grupo, cuja freqüência numérica, ação do veneno sôbre homem e animais domésticos, aliados à sua qualidade de vulnerantes, os qualificam como de importância médico-sanitária.

Quem aponta geralmente os *Aracnoides* temíveis é o próprio paciente ou médico, procurado para o tratamento. Os investigadores confirmam a posteriori a periculosidade do agente acusado, por aferições da intensidade e do modo de ação da peçonha em animais sensíveis, pelo arrolamento de sua freqüência numérica em áreas geográficas restritas ou vastas, pelo estudo eco-biológico e do contato, raro ou mais freqüente, com o homem e pela elaboração de um sôro.

Seja desde já assinalado o fato curioso de que, dentro de um mesmo gênero, possam existir espécies realmente temíveis, com picadas mortais e outras com veneno apenas levemente intoxicante. Mesmo dentro de uma e mesma espécie podem ocorrer intoxicações gravíssimas ou apenas leves, segundo as diferentes áreas de dispersão do *Aracnoide*.

---

* Trabalho apresentado nos VII Congressos Internacionais de Medicina Tropical e Malária, Rio de Janeiro, setembro de 1963, sob os auspícios do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan (FPIB).

Recebido para publicação em 19/6/63.

Dispersão geográfica dos gêneros temíveis

A propositai dispersão das poucas espécies temíveis oferece interessante contribuição à conceituação clássica do que sejam as regiões geográficas e dos meios da dispersão ativa e passiva durante as diversas eras geológicas.

Os escorpiões temíveis, por exemplo, todos nìtidamente criptozóicos, com aparecimento na maioria das vêzes apenas insular, ora estão confinados à áreas bastante restritas, ora sobrepassam insòlitamente diversas regiões geográficas. Sobressai um fato singular: não há hoje nenhum gênero sequer no continente americano comum às demais regiões zoogeográficas do Velho Mundo e da Austrália! Mesmo no continente americano existe nítida e rigorosa separação entre a região neo-ártica (do México e da Califórnia para o norte), onde só na sub-família Centrurinae existem escorpiões perigosos, e a região neotrópica onde há representantes temíveis apenas na sub-família Tityinae, com concentração máxima na sub-região brasiliana e dispersão em leque em direção ao nordeste brasileiro e a sub-região antilhense. Os Buthinae, ao contrário, espalharam-se através das três regiões pale-árticas, etiópica e oriental, isto é, desde Marrocos até a Sibéria, o Nilo Superior e a África do Sul.

Os três gêneros de "Aranhas caranguejeiras" perigosas, criptozóicas e estenobióticas, acham-se distribuídos por três longínquos continentes, separados por imensos oceanos, *Harpactirella* na África do Sul, *Atrax* na Austrália e Nova Zelândia e *Trechona* na América do Sul.

Entre as poucas aranhas verdadeiras temíveis pode observar-se que a moradia, enquanto esta é capaz de oferecer um *optimum* biológico nas variadas condições de temperatura e umidade, vem a constituir um fator de dispersão primordial:

a) As aranhas errantes do gênero *Phoneutria*, que nunca constroem moradia, mas apenas aproveitam lugares escuros fortuitamente achados, mesmo em residências humanas, tem dispersão estenobiótica apenas na região neotropical (Brasil);

b) As aranhas caçadoras, mas semi-sésseis do gênero *Lycosa*, que constroem túneis dentro da terra, providos ou não de tampa protetora, lograram tornar-se tropical e — subtropical — cosmopolitas, penetrando até áreas francamente temperadas ou mesmo frias e oferecendo aos especialistas a mais variada gama de sub-gêneros e sub-espécies;

c) As aranhas obrigatòriamente sedentárias do gênero *Latrodectus*, quase incapazes de se locomoverem livremente sôbre o solo e que vivem em certa sociabilidade, embora individualmente separadas por suas teias, construídas nas ramas escuras dos arbustos ou perto do sol, com eficientes refúgios contra a luz, chuvas e o frio e onde hibernam, conquistaram contudo a Europa, Ásia, África, América e Austrália, seja por dispersão ativa de seus filhotes, levados pelos ventos em suas minúsculas teias, seja por dispersão passiva pelo homem:

d) As frágeis e pequeníssimas aranhas do gênero *Loxosceles,* criptozóicas e obrigatòriamente noturnas, sedentárias em suas teias irregulares, construídas sempre ao abrigo da luz em cavernas naturais, em fendas de barrancos, sob as raízes e entre as cascas de árvores, sob madeiramento e tijolos, armazenados pelo homem em volta de suas casas, conquistaram os Continentes do Velho e do Novo Mundo, principalmente por meio de dispersão passiva, levadas pelo homem com as mercadorias.

Distribuição geográfica das espécies temíveis

I.ª Ordem — **SCORPIONES**

1.ª Família — BUTHIDAE

A. Sub-família — Buthinae

1.º gênero — *Androctonus* H. e E. 1829

Espécies temíveis — *A. australis, A. aeneas, A. amoreuxi, A. hoggarensis* — Velho Mundo, desde a Índia e Pérsia até ao Atlântico: Egito, Nilo Superior, Senegal, Saara, Algéria, Marrocos.

2.º gênero — *Buthacus* Br. 1908

Espécie temível — *B. arenicola* — Marrocos, Algéria, Saara, Líbia, Egito, Palestina, Síria.

3.º gênero — *Buthotus* Vach. 1948

Espécies temíveis — *B. judaicus* — Israel; *B. frazwerneri* — Algéria, Marrocos.

4.º gênero — *Buthus* Leach 1815

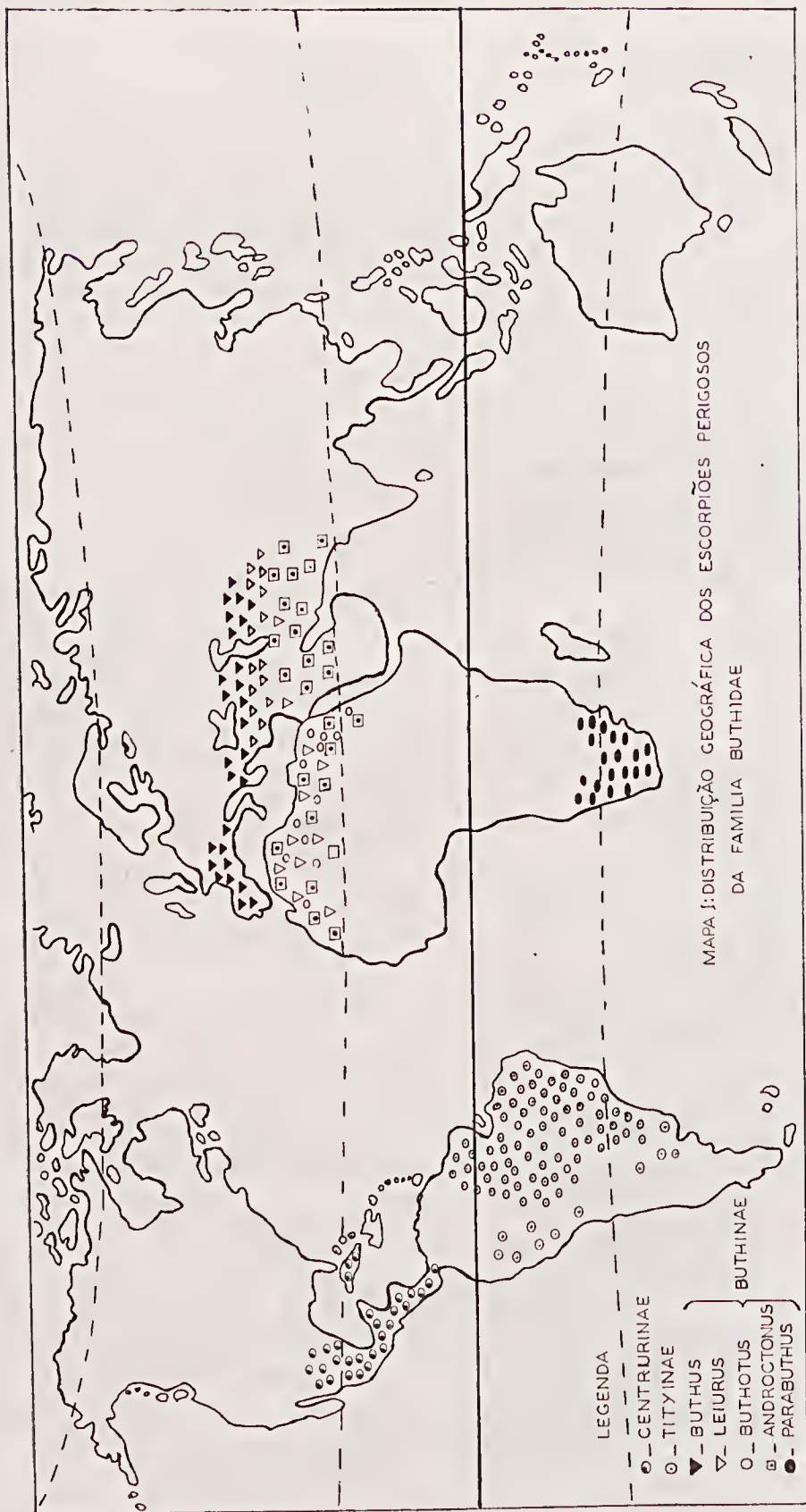
Espécies temíveis — *B. occitanus, atlantis, marroccanus* — Mediterrâneo europeu e africano desde o Atlântico até o Mar Vermelho.

5.º gênero — *Leiurus* (H. e E.) 1829

Espécie temível — *L. quinquestriatus* — Turquia, Síria, Palestina, Israel, Arábia, Iemen.

6.º gênero — *Parabuthus* Poc. 1893

Espécies temíveis — *P. villosus, P. liosoma* e outras — África do sul, oriental e ocidental até o Sudão.

MAPA I: DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS ESCORPIÕES PERIGOSOS DA FAMILIA BUTHIDAE

B. Sub-família — CENTRURINAE

7.º gênero — *Centruróides* M. 1889

Espécies temíveis — *C. sculpturatus, gertschi, suffusus, noxius, limpidus, infamatus, gracilis,* etc. — Sul dos Estados Unidos da América do Norte, México, América Central, Antilhas (dispersão passiva para a América do Sul).

C. Sub-família — TITYINAE

8.º gênero — *Tityus* C. L. Koch 1836

Espécies temíveis — *T. serrulatus, bahiensis, trinitatis, trivitatus,* etc. — América do Sul, sub-região brasiliana desde o Trópico do Capricórnio até a ilha de Trinidad (dispersão passiva — América Central até Flórida e Califórnia e Buenos Aires).

2.ª Família — SCORPIONIDAE

A. Sub-família — DIPLOCENTRINAE

9.º gênero — *Nebo* Simon 1877

Espécie temível — *N. hierouchouticus* — Turquia, Síria, Israel até Arábia.

B. Sub-família — SCORPIONINAE

10.º gênero — *Heterometrus* H. e E. 1829

Espécies temíveis — *H. indus, cyaneus, scaber, bengalensis, caesar, liurus, longimanus, liophysa* — Filipinas, Málaga, Burma, Sumatra, Java, Ceilão, China, Índia.

11.º gênero — *Pandinus* Thor. 1877

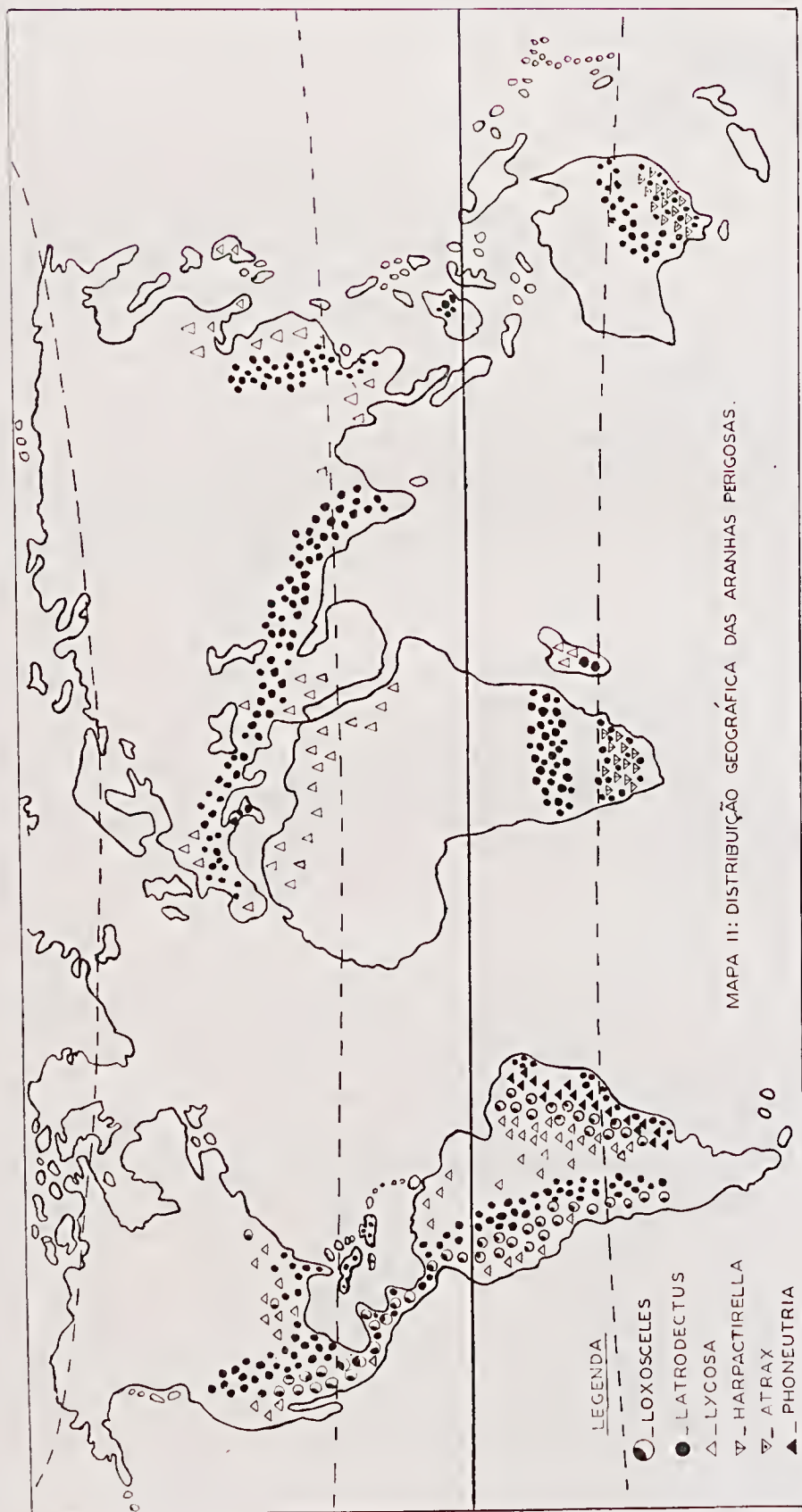
Espécies temíveis — *P. imperator, dictator, arabicus, pallidus, bellicosus, colei* — África tropical e Arábia.

12.º gênero — *Scorpio* L. 1758

Espécie temível — *Sc. maurus* — Marrocos, Algéria, Líbia, Saara.

13.º gênero — *Opisthophthalmus* C. L. Koch 1838

Espécies duvidosas — *O. opinatus, carinatus, laticauda, pallipes, capensis, granifrons, pictus, gigas, flavescens* — África do Sul, Oriental, Ocidental, Central.

MAPA II: DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS ARANHAS PERIGOSAS.

C. Sub-família — Ischnurinae

14.º gênero — *Hadogenes* Krpln. 1894

Espécies temíveis — *H. trichiurus, troglodytes, pallidus, tityurus* — África do Sul e Madagascar.

3.ª Família — VEJOVIDAE

15.º gênero — *Vejovis* Koch 1836

Espécies duvidosamente temíveis — *V. mexicanus, granulatus, cristimanus, spinigerus, crassimanus, carolinus* — U.S.A.: Texas, Carolina, Georgia; México.

16.º gênero — *Hadrurus* Thor. 1877

Espécie temível — *H. hirsutus* — U.S.A.: California, Arizona.

17.º gênero — *Hadruroides* Poc. 1893

Espécie temível — *H. lunatus* — América do Sul, ao longo dos Andes: Colombia até Chile.

II.ª Ordem — **ARANEIDA (ARANEAE)**

A. Sub-Ordem — ORTHOGNATHA = "Aranhas caranguejeiras"

1.ª Família — DIPLURIDAE

A. Sub-família — Macrothelinae

1.º gênero — *Atrax* Cambr. 1877

Espécies temíveis — *A. formidabilis, modesta, pulvinator, robusta, tibialis, valida, venenata, versuta* — Austrália, Queensland, Tasmânia.

B. Sub-família — Diplurinae

2.º gênero — *Trechona* C. Koch 1850

Espécies temíveis — *T. venosa, lycosiformis, sericata, uniformis, adspersa* — Brasil, Guianas, Colômbia, Chile.

2.ª Família — BARYCHELIDAE

Sub-família — Leptopelmatinae

3.º gênero — *Harpactirella* Purc. 1902

Espécies temíveis — *H. lightfooti, helenae, karrooica, lapidaria, longipes, spinosa, treleaveni, schwarzi, magna, domicola* — África do Sul.

3.ª Família — THERAPHOSIDAE

Sub-família — THERAPHOSINAE

4.º gênero — *Acanthoscurria* Auss. 1871

Espécies temíveis — *A. atrox, gigantea, geniculata, juruenicola, violacea, sternalis* — América do Sul: desde o 25º lat. sul até América Central e Antilhas.

5.º gênero — *Theraphosa* Thor. 1870

Espécie temível — *Th. leblondi* — Pequenas Antilhas, Venezuela, Guianas, Brasil: Amapá.

6.º gênero — *Lasiodora* C. Koch 1850

Espécies temíveis — *L. klugii, curtior, differens, saeva, spinipes,* etc. — Brasil.

7.º gênero — *Megaphobema* Poc. 1901

Espécie temível — *M. robusta* — Colômbia.

8.º gênero — *Xenesthis* Simon 1891

Espécies temíveis — *X. inmanis, monstruosa* — Panamá, Colômbia, Venezuela.

9.º gênero — *Pamphobeteus* Poc. 1901

Espécies temíveis — *P. tetracanthus, fortis, ferox, antinous, augusti, insignis, roseus, ornatus,* etc — América do Sul, do 27º lat. sul até Panamá.

B. Sub-Ordem — LABIDOGNATHA = "Aranhas verdadeiras"

1.ª Família — CTENIDAE

Sub-família — CTENINAE

1.º gênero — *Phoneutria* Perty 1833

Espécies temíveis — *Ph. fera, luederwaldti, ochracea, rufibarbis, paca, andrewsi, reidyi* — Brasil: São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro; Paraguai; Bolívia, Guianas.

LEGENDA
⊙ - AVICULARIINAE
▲ - THERAPHOSINAE
● - GRAMMOSTOLINAE
□ - GLYPTOCRANIUN
MAPA III: DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS ARANHAS PERIGOSAS NA AMÉRICA DO SUL.

2.ª Família — SICARIIDAE

Sub-família — Loxoscelinae

2.º gênero — *L o x o s c e s* Heinecke e Lowe 1833/35

Espécies temíveis — *L. rufescens, rufipes, spadicea, reclusa, lutea, unicolor, laeta* — África, Mediterrâneo, Ilhas do Atlântico, América do Norte: Kansas, Missouri, Nebraska; América do Sul: Colômbia, Perú, Bolívia, Chile, Argentina, Uruguai, Paraguai; Brasil: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Mato Grosso, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Goiás.

3.ª Família — LYCOSIDAE

Sub-família — Lycosinae

3.º gênero — *L y c o s a* Latreille 1804

Espécies temíveis — *L. erythrognatha, nordenskijöldi, nychtemera, poliostoma, pampeana, hispanica, radiata, narbonensis, tarentula, ornata, etc.* — tropical e subtropical cosmopolitas, penetrando até as regiões de clima frio.

4.ª Família — THERIDIIDAE

A. Sub-família — Latrodectinae

4.º gênero — *L a t r o d e c t u s* Walcken. 1805

Espécies temíveis — *L. mactans mactans, L. m. tredecimguttatus, L. m. cinctus, L. m. menavodi, L. m. hasselti, L. geometricus, L. pallidus, L. curaçaviensis, L. hystrix, L. dahli* — cosmopolita: do Canadá à Patagônia, da Sibéria à Austrália, Mediterrâneo, África, Madagascar.

B. Sub-família — Asageninae

5.º gênero — *L i t h y p h a n t e s* Thor. 1870

Espécies temíveis — *L. anchoratus, andinus, iheringi, nigrofemuratus* — Chile, Bolívia, Argentina.

5.ª Família — ARANEIDAE

Sub-família — Araneinae

6.º gênero — *G l y t o c r a n i u m* (*Mastophora*) Simon 1895

Espécie temível — *Gl. gasteracanthoides* — Chile.

MAPA IV: DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS ARANHAS PERIGOSAS NA AMERICA DO SUL.

6.ª Família — CLUBIONIDAE

8.º gênero — *Chiracanthium* Koch 1839

Espécies temíveis — *Ch. inclusum. ferum, lanipes, tropicum, subflavum, diversum* — Hawaii, México. Panamá, Antilhas, Colômbia, Perú.

7.ª Família — SALTICIDAE

Sub-família — DENDRYPHANTINAE

9.º gênero — *Dendryphantes* Simon 1901

Espécies temíveis — *D. noxiosus, sacci, mordax, aeneidens, albopilosus* — Perú, Bolívia. Paraguai. Argentina, Brasil meridional.

RESUMO

No presente trabalho é dada a distribuição geográfica dos aracnídeos mais peçonhentos.

SUMMARY

The geographical distribution of the most poisonous Arachnoids is referred to in the present paper.

Mem. Inst. Butantan,
31:67-76, 1964.

MECANISMO DA PICADA DAS ARANHAS PEÇONHENTAS PERIGOSAS *

WOLFGANG BÜCHERL

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Sistemática das aranhas brasileiras perigosas

As aranhas peçonhentas do Brasil, cujas picadas são perigosas para o homem, pertencem comumente a um dos seguintes quatro gêneros: *Loxosceles,* sub-família Loxoscelinae, família SICARIIDAE; *Latrodectus,* sub-família Latrodectinae, família THERIDIIDAE; *Lycosa,* sub-família Lycosinae, família LYCOSIDAE e *Phoneutria,* sub-família Cteninae, família CTENIDAE.

As espécies mais freqüentes e melhor estudadas e sua distribuição geográfica na América do Sul são as seguintes: *Loxosceles rufescens* (Dufour) 1820, tropical cosmopolita, encontrada também na Colômbia, no Perú e em diversas localidades do Brasil: Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, inclusive na Capital de São Paulo; *Loxosceles rufipes* (Lucas) 1834, América Central (Panamá) e Sul: Colômbia, Perú, Bolívia, Chile, Argentina (a "araña homicida" de Buenos Aires), Uruguai (considerada a mais perniciosa no país), Brasil: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo (na própria Capital), Rio de Janeiro, Minas Gerais, Goiás; *Loxosceles spadicea* Simon 1907, Bolívia, Brasil: Rio Grande do Sul (Santo Ângelo), São Paulo (Santo André), Goiás (Brasília); *Latrodectus geometricus* C. Koch 1841, tropical cosmopolita, encontrada em todos os países da América do Sul e no Brasil em Pôrto Alegre, em diversas localidades do Rio de Janeiro, inclusive nas praias, Minas Gerais, Bahia; *Latrodectus mactans mactans* (Fabricius) 1775, sub-espécie americana desde os U.S.A., México, países da América Central, Grandes Antilhas, Venezuela, Equador, Perú, Paraguai, rara no Brasil, tendo havido capturas em Recife e em Pôrto Alegre; *Latrodectus curacaviensis* (Müller) 1776, espécie americana, desde o Canadá até a Patagônia, Pequenas Antilhas (Curaçáu), Guianas, Venezuela, Galápagos, Chile, Chaco Paraguaio, Argentina (Chaco, Patagônia, Colonia Dora, Santiago del Estero), Brasil: praias da Guanabara, do Estado do Rio de Janeiro (Piratininga, Itaipú, Itacoatiara, Itaipuassu, Cabo Frio), Bahia (Caravelas); *Lycosa auroguttata* (Keyserling) 1891, São Paulo até o Rio

---

* Sob os auspícios do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan. Apresentado na XVª Reunião Anual da S.B.P.C., Campinas, julho de 1963.

Recebido para publicação em setembro de 1963.

Grande do Sul; *Lycosa erythrognatha* Lucas 1836, muito freqüente em todo o Estado de São Paulo; *Lycosa nychthemera* (Bertkau) 1880, o mesmo habitat da espécie anterior, mas muito mais rara; *Lycosa ornata* Perty 1833, orla marítima desde o Rio de Janeiro até o Paraná; *Lycosa pardalina* (Bertkau) 1880, regiões altas do Estado do Rio de Janeiro; *Lycosa poliostoma* (C. Koch) 1848, Uruguai, Paraguai, Argentina até a Patagônia, Chile; *Lycosa thorelli* (Keyserling) 1876, em todo o Brasil, com exceção da hiléia amazônica; *Phoneutria fera* Perty 1833, desde o Rio de Janeiro, sul de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, relativamente freqüente em todo o Estado de São Paulo: vale do Paraíba, arredores da Capital; *Phoneutria ochracea* C. Koch 1848, Brasil; *Phoneutria reidyi* F. Cambridge 1897, Santarém, Estado do Pará; *Phoneutria rufibarbis* Perty 1833, Uruguai, Argentina; *Phoneutria sanguinea* (Walckenaer) 1837, Brasil.

Material e método

No intuito de verificar se entre os espécimes adultos destas espécies existem ou não grandes variações nas dimensões do aparelho introdutor de veneno, tomamos de cada espécie dez fêmeas adultas e aferimos os valôres médios de seu comprimento total e do cefalotórax. Após dissecação e com o auxílio de microscópio estereoscópico, aferimos os valôres médios do comprimento e da largura de suas quelíceras e dos ferrões, bem como a curvatura e a mobilidade lateral dos últimos. Estas peças foram montadas em bálsamo do Canadá. Na medida que as dissecações progrediam, estudamos também a topografia dos feixes musculares das quelíceras e das glândulas de veneno, seus pontos de inserção e seu percurso. As glândulas de veneno foram igualmente medidas, como também os canais eferentes. Muitas glândulas foram conservadas em bálsamo, de outras fizeram-se cortes longitudinais e transversais corados com hematoxilina-eosina, para ulteriores estudos histológicos.

Como resultado das medições obtivemos valôres médios pràticamente iguais, com diferenças mínimas, para tôdas as espécies citadas, enquanto estas pertencem ao mesmo gênero. De gênero para gênero, entretanto, os valôres medidos se mostram profundamente disparatados; a própria curvatura dos ferrões varia igualmente de gênero para gênero, mas não significativamente de espécie para espécie.

Aparelho venenífero

As aranhas citadas pertencem à sub-ordem das LABIDOGNATHA, cujas quelíceras inoculadoras do veneno estão em posição diaxial em relação ao eixo longitudinal do corpo e os dois ferrões movimentam-se em sentido horizontal de fora para dentro e vice-versa. O aparelho de veneno (Figs. 1-4) consiste num par de quelíceras, que, além de inocular o veneno, tem parte funcional em muitas

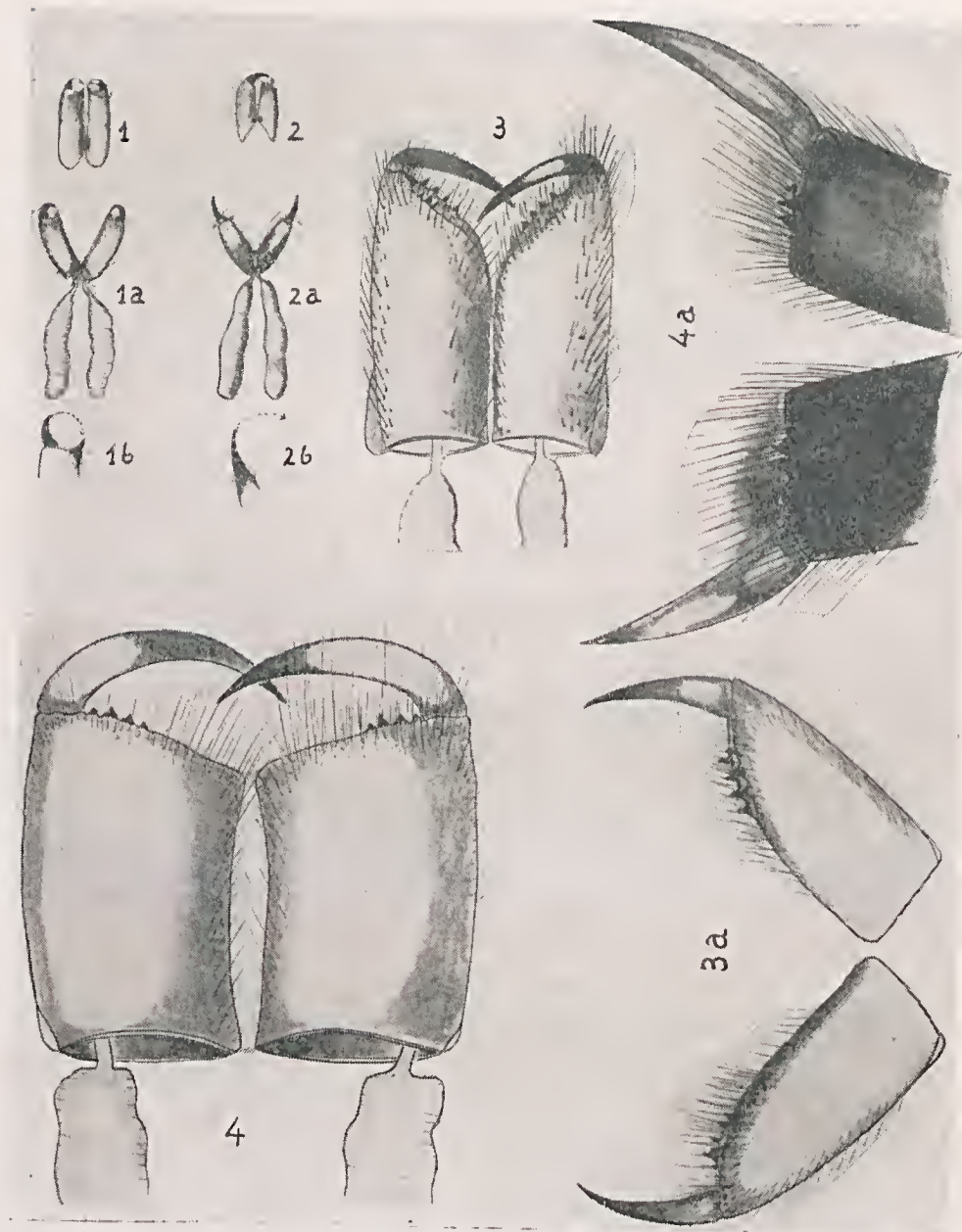



Fig. 1 — *Loxosceles rufipes* — quelíceras com ferrões em repouso — 15× aumentadas.
Fig. 1a — *Loxosceles rufescens* — quelíceras distendidas; um par de glândulas de veneno — 15× aumentadas.
Fig. 1b — *Loxosceles spadicea* — ferrão totalmente distendido — 45× aumentadas.
Fig. 2 — *Latrodectus mactans* — quelíceras em posição de repouso — 15× aumentadas.
Fig. 2a — *Latrodectus curaçaviensis* — quelíceras distendidas e glândulas de veneno — 15× aumentadas.
Fig. 2b — *Latrodectus curaçaviensis* — ferrão completamente distendido — 45× aumentadas.
Fig. 3 — *Lycosa erythrognatha* — quelíceras em posição de repouso — 15× aumentadas.
Fig. 3a — *Lycosa thorelli* — quelíceras completamente distendidas — 15× aumentadas.
Fig. 4 — *Phoneutria fera* — quelíceras em posição de repouso — 15× aumentadas.
Fig. 4a — *Phoneutria fera* — quelíceras completamente distendidas — 15× aumentadas.

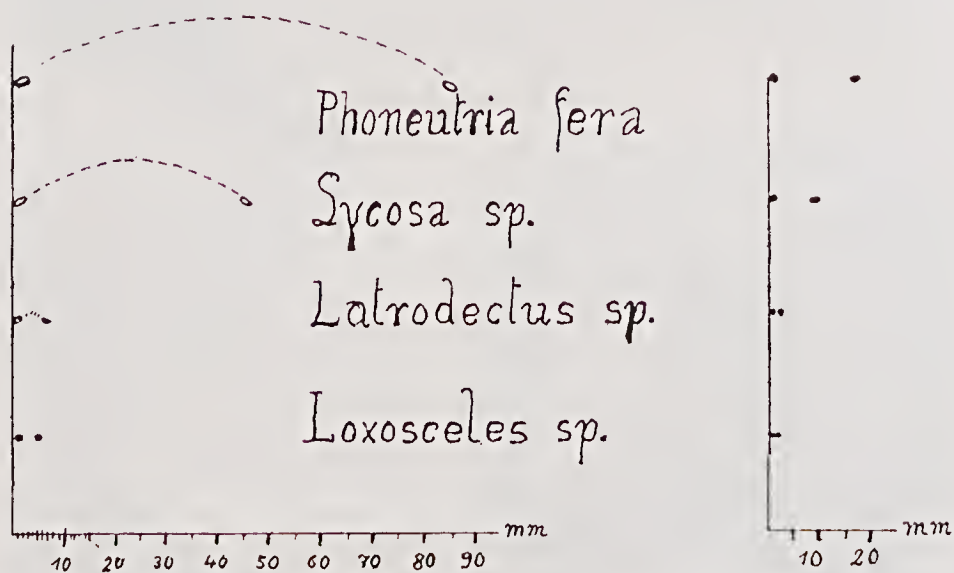



Fig. 5 — Distâncias máximas das marcas de prêsas deixadas na vítima: à esquerda, 5× aumentadas; à direita, tamanho natural.

aranhas, para segurar e triturar o alimento e num par de glândular produtoras do veneno, cada uma com seu canal eferente. A glândula de veneno, de 1,7 a 2,0 mm de comprimento por 0,3 a 0,35 mm de largura em *Loxosceles rufescens* e *rufipes*, 1.6 a 2,0 mm de comprimento por 0,32 mm de largura em *Latrodectus curacaviensis* (Fig. 2a), 4,5 a 6,0 mm em média de comprimento por 1,0 a 1,2 mm de largura nas citadas espécies de *Lycosa* e de 8,0 a 10,0 mm de comprimento por 2.4 a 2,7 mm de largura em *Phoneutria fera*, tem em todos os gêneros a forma de um pequeno cilindro (Figs. 1a e 2a) com leves constrituras. É de côr branco-amarelada, distinguindo-se por isto fàcilmente por entre os feixes musculares brancos. As duas glândulas são do mesmo tamanho e localizam-se dentro do cefalotórax da aranha desde a fronte até a fóvea torácica, mais ou menos. Cortes longitudinais mostram a mesma topografia nas glândulas dos quatro gêneros, um manto muscular externo, a membrana basal de tecido conjuntivo e o epitélio glandular com as células excretoras.

O manto muscular envolvente recobre, nos quatro gêneros, todo o corpo glandular desde o colo. É desdobrado em feixes musculares estriados, que correm em volta da glândula, com os pontos de inserção e contra-inserção perto do colo e em volta do fundo da glândula respectivamente. Em cortes longitudinais pelas glândulas aparecem cortados ora transversal ora tangencialmente, sendo visíveis as tonofibrilas de suas inserções em diferentes zonas da membrana basal.

A membrana basal parece ser dupla, pois em algumas zonas observam-se no lado de fora as tonofibrilas do manto muscular e mais para dentro a membrana peritoneal do epitélio glandular.

O epitélio glandular consiste nas células excretoras do veneno. Tôdas as células assentam com a base na membrana peritoneal e se dirigem para o centro da glândula, onde deixam vazio um espaço central, o reservatório do veneno elaborado. As células jovens são cilíndricas, longas, com membrana envolvente nítida e com um grande núcleo na porção basal. O plasma contém apenas micrograñulos, localizados em volta do núcleo. Num outro trecho da glândula encontra-se um conjunto de células excretoras em fase funcional, já mais progredida, em que os micrograñulos já avançaram em direção do ápice celular e novos grânulos estão surgindo em volta do núcleo basal. Num terceiro conjunto, já se observam uma ou mais massas aglutinadas de veneno, de posição apical ou sub-apical, oriundas da fusão dos micrograñulos, enquanto que micrograñulos continuam a ser produzidos na porção basal da mesma célula. Num conjunto ainda mais avançado de produção de veneno, os ápices das células produtoras se apresentam rompidos e as massas aglutinadas de veneno penetrando no reservatório central. Na porção basal ainda há a produção de novos micrograñulos. Finalmente observa-se um conjunto de células excretoras, rompidas no ápice, apenas com os contornos laterais, sem massas aglutinadas em seu interior e em sua porção basal, apenas com um ou dois grânulos de tamanho diferente. Deve tratar-se de células excre-

toras esgotadas, que, ao que parece, não mais se regeneram. Há, entretanto, em *Lycosa* e *Phoneutria*, pequenas células, ao lado das esgotadas, aderentes à membrana basal, que poderão dar origem a novas células exeretoras, renovando-se, pois, em fases contínuas e sucessivas, todo o epitélio glandular. Êste fato é muito importante para uma aranha que pode viver entre 3 a 6 anos.

Perto do colo da glândula, observamos em *Lycosa* e *Phoneutria* uma zona, separada do resto das células excretoras por um septo epitelial. As células excretoras desta zona do colo formam apenas microgránulos, que não se parecem fundir em massas aglutinadas maiores, mas que difundem pelas paredes das células, chegando assim em contato com o veneno aglutinado no lume central.

A coloração pela hematoxilina-eosina revela que o veneno acumulado no reservatório central é acidófilo, enquanto que os micrográmulos dentro das células excretoras são basófilos. É justo, pois, que se conclua, que pelo menos duas substâncias diferentes concorram na elaboração do veneno e que o mesmo, ainda dentro do lume central, receba ainda uma terceira substância das células do colo.

O canal eferente, que constitui a continuação do colo da glândula, percorre os dois artículos das quelíceras e termina num poro de saída perto da ponta do ferrão. Tem cêrca de 1,5 mm de comprimento em *Loxosceles* e *Latrodectus*, de 4,5 a 5,0 mm em *Lycosa* e entre 10 e 12 mm de comprimento em *Phoneutria*. É sempre muito estreito, com menos de 0,05 mm de largura nos dois primeiros gêneros e não muito mais nos dois últimos. Em *Lycosa* e *Phoneutria*, notamos em alguns espécimes um alargamento vesicular de cêrca de 1.5 mm à altura da dobradura do ferrão. O epitélio do dueto é simples, com células achatadas.

Musculatura do aparelho venenífero

A musculatura do aparelho venenífero, estudado nos quatro gêneros, se compõe de feixes musculares extensores e flexores do ferrão, de feixes extensores e flexores do artículo basal das quelíceras e da musculatura da glândula de veneno e do ducto eferente. Os flexores e extensores do ferrão nascem de um a outro lado da base do ferrão, atravessam a articulação e se inserem na membrana basal do segundo artículo das quelíceras, sob a epiderme. Os flexores e extensores do segundo artículo nascem na membrana basal da epiderme dêste mesmo artículo, dos dois lados, percorrem todo o artículo em sentido transversal e penetram profundamente no cefalotórax, inserindo-se parcialmente na membrana basal da epiderme do cefalotórax e parcialmente no endoesqueleto. Poderosos feixes flexores e extensores do segundo artículo da quelícera nascem ainda na base interna e externa dêste mesmo artículo, vindo a inserir-se ao lado dos feixes anteriores.

A musculatura da glândula de veneno consiste em feixes tonofibrilares de percurso longitudinal, em *Lycosa* e *Phoneutria*, tem sua origem num robusto e flexível tendão, que vem desde a parte apical do ferrão, acompanha intimamente o

percurso do ducto eferente e se desfaz, à altura da porção basal do segundo segmento da quelícera, em inúmeros feixes que se inserem na parte externa do manto muscular envolvente da glândula. Em *Lycosa* alcançam o fundo da glândula de veneno, em *Phoneutria* chegam até aquela porção da glândula de veneno, em que o manto muscular se torna mais longitudinal.

No mesmo tendão nascem, dentro do artículo basal das quelíceras, os feixes musculares dilatadores do ducto. Originam-se ao longo de todo o ducto, atravessam tangencialmente o artículo, infiltrando-se por entre os feixes flexores e extensores e inserem-se no membrana basal da epiderme do mesmo artículo.

No segundo artículo das quelíceras, na base, entre o cefalotórax e a entrada do artículo, há em *Lycosa* e *Phoneutria*, um espessamento e estreitamento do artículo, com feixes musculares circulares, que mantêm a glândula de veneno no lugar e impedem que a mesma, no momento da picada, avance para a frente.

Quando a aranha pica, isto é, quando tanto o ferrão, como o artículo basal das quelíceras executam os movimentos de extensão e flexão e entram em jôgo os músculos adutores e abdutores, então, por fôrça da tração exercida pelo tendão principal, a glândula de veneno é puxada enèrgicamente para a frente (pelos músculos que se inserem por fora do manto muscular); ao mesmo tempo o manto muscular envolvente impede que a mesma se dilate pelos lados. Como conseqüência dêste repuxamento, é o veneno impulsionado em jato para dentro do ducto. Ao mesmo tempo e ainda por fôrça da tração do tendão, que envolve o ducto, é o lúmen do ducto dilatado em todo o seu percurso, garantindo o jato de veneno até o poro de saída (pelos músculos dilatadores do ducto).

Ferrões e artículos basais das quelíceras

Em *Loxosceles rufipes*, *rufescens* e *spadicea* medem os ferrões em tôrno de 0,45 mm e as quelíceras 1,45 mm de comprimento por 0.65 mm de largura (Figs. 1-1a e 1b). Os ferrões se apresentam bastante curvos, principalmente na ponta. Na posição de repouso as pontas dos ferrões repousam, cada uma, sôbre a ponta da apófise anterior interna da quelícera, não chegando nunca os ferrões a entrecruzar-se, nem mesmo na picada. A máxima distensão, de que os ferrões e as quelíceras são capazes, no ato de morder, é de cêrca de 0,8 mm, de maneira que os dois pontos de penetração dos ferrões no corpo da vítima seriam afastados um do outro no máximo de apenas 0,8 mm e a profundidade de penetração seria no máximo de 0,4 mm (Fig. 5).

Em *Latrodectus mactans* e *curacaviensis*, com 0,35 a 0,45 mm de comprimento dos ferrões e cêrca de 1 mm de comprimento das quelíceras, as pontas dos ferrões se entrecruzam na posição de repouso. Quando uns e outros forem totalmente distendidos, há uma distância entre as pontas dos ferrões, de cêrca de 1,2 mm apenas (Figs. 2-2a e 2b). As duas marcas de penetração, deixadas no

corpo da vítima seriam, pois, distantes uma da outra apenas de cêrca de 1 mm (Fig. 5) e sua profundidade de penetração não excederia mais de 0,4 mm.

Nas espécies de *Lycosa erythrognatha, thorelli, nychthemera*, etc., medem os ferrões cêrca de 2,7 mm e o artículo basal das quelíceras de 4,5 a 5,5 mm. Em posição de repouso os ferrões ou se entrecruzam ou ficam recolhidos na goteira (Fig. 3); em posição de ataque podem as pontas dos ferrões deixar marcas na vítima, distantes cêrca de 9 mm ao máximo, 6 mm em média e com uma profundidade de cêrca de 2,5 mm (Figs. 3a e 5).

A temível espécie *Phoneutria fera*, apresenta 4,6 mm de comprimento de ferrões e entre 6 a 7 mm de comprimento do artículo basal das quelíceras (Fig. 4). O máximo da distância, que suas pontas de ferrões podem deixar na vítima é de 17 mm (Figs. 4a e 5), com uma profundidade de cêrca de 4 mm.

Discussão

Não está definitivamente esclarecida a estrutura histológica das glândulas de veneno das aranhas aqui tratadas, principalmente no tocante ao esgotamento definitivo e à degenerescência das células excretoras, como também não se sabe se o produto final venenoso resulta do concurso de três misturas venenosas diferentes, das quais duas seriam elaboradas pelas células excretoras do corpo glandular e a terceira pelas células excretoras do colo glandular. O funcionamento do sistema muscular das quelíceras e das glândulas de veneno, em que, aos movimentos de vai-vem dos ferrões, correspondem simultâneamente o esvaziamento em jato da glândula e a dilatação do ducto eferente para a propulsão do veneno e sua expulsão explosiva quase pode ser considerada bastante patente e condizente com o que se observa em experiências.

Quanto às distâncias máximas que os ferrões dos quatro gêneros de aranhas temíveis podem deixar no corpo da vítima, há a assinalar que se poderiam confundir as picadas por *Loxosceles* e por *Latrodectus* de um lado e as por *Lycosa* e *neutria* de outro lado. Nas regiões, entretanto, nas quais se sabe não existir *Latrodectus*, como é o caso geral no Brasil (com exceção de algumas praias do Estado do Rio de Janeiro e da Guanabara) ou um dos gêneros da *Lycosa* ou *Phoneutria*, seria perfeitamente possível, distinguir-se pelas distâncias dos dois pontos de penetração dos ferrões, entre uma *Loxosceles* e uma *Lycosa* ou *Phoneutria*.

Resumo

No presente trabalho são aferidas as médias das medidas de dez exemplares, fêmeas adultas, das aranhas perigosas dos gêneros *Loxosceles, Latrodectus, Lycosa* *Phoneutria* de outro lado. Nas regiões, entretanto, nas quais se sabe não existir à possibilidade de distensão máxima dos ferrões no momento de picar, à profun-

didade de penetração dos mesmos no corpo de uma vítima e aos comprimentos e larguras das glândulas veneníferas. É descrita também a interrelação entre o mecanismo de picada, quanto aos artículos fortemente quinitizados e os feixes musculares adutores e abdutores dêstes e a musculatura da glândula e do ducto de veneno.

SUMMARY

In this paper is described the average size of the fangs, of the basal segments, of the venomous glands and the maximum distances of the pits from the two fangs, when biting, of ten adult female spiders belonging to the genera *Loxosceles* (*rufipes, rufescens* and *spadicea*), *Latrodectus* (*mactans* and *curaçaviensis*), *Lycosa* (*erythrognatha, nychthemera, thorelli*) and *Phoneutria fera*. The mechanisms of expelling the venom from the glands and the ducts by different muscle-bundles are also described.

Agradecimento — Agradecemos à Maria Aparecida de Toledo, técnica de laboratório, pela feitura dos cortes histológicos e da montagem das peças totais das aranhas.

HISTOLOGIA DAS GLÂNDULAS DE VENENO DE ALGUMAS ARANHAS E ESCORPIÕES *

WOLFGANG BÜCHERL

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Morfologia do aparelho de veneno

Nas aranhas consiste o aparelho de veneno em um par de quelíceras e um par de glândulas de veneno. A posição *paraxial* das quelíceras em relação ao eixo longitudinal do corpo e o movimento vertical das presas inoculadoras caracterizam as aranhas que pertencem à subordem das "caranguejeiras" (ORTHOGNATHA), enquanto que a posição *diaxial* e movimentos horizontais são privativos das aranhas "verdadeiras" da subordem LABIDOGNATHA. Ao primeiro grupo pertencem, entre centenas de espécies, consideradas pràticamente inofensivas, as temíveis representantes do gênero *Atrax* da Austrália e Tasmânia, as do gênero *Harpactirella* da África do Sul e, na região neotropical, as aranhas de alçapão, do gênero *Actinopus* e as aranhas com teias de funil, *Trechona*. A picada por uma espécie pertencente aos primeiros dois gêneros, determina no homem intoxicação de média gravidade até gravíssima, inclusive a morte, como atestam recentes publicações especializadas. Nada se sabe no tocante a acidentes com os dois gêneros neotropicais; publicações, entretanto, sôbre a ação tóxica do veneno de *Trechona* e de *Actinopus*, feitas por V. Brasil e J. Vellard e outros, não deixam dúvida, de que devem ser consideradas perigosas.

Entre os milhares de espécies de aranhas verdadeiras, apenas as seguintes foram comprovadas como vulnerantes e com veneno bastante ativo sôbre o organismo humano: as "*viúvas negras*", incluindo diversas subespécies de *Latrodectus mactans* das Américas, do Mediterrâneo, da África do Sul, de Madagascar, da Austrália, de algumas ilhas do Pacífico, inclusive dt Hawaii, a *Latrodectus curacaviensis*, desde o Canadá até a Patagônia, costas do Rio de Janeiro até Pernambuco, e *Latrodectus geometricus*, tropical cosmopolita, mas de veneno bem menos ativo;

---

* Trabalho referido no simpósio VENENOS E TOXINAS, na XVIª Reunião Anual da SBPC, Ribeirão Prêto, SP — 5 a 11 de julho de 1964, realizado sob os auspícios do FPIB e do National Institute of Health, U.S.A.

Recebido para publicação em 12/8/1964.

as *"aranhas marrons"*, com as principais espécies. *Loxosceles rufescens* e *L. rufipes*, a primeira tropical cosmopolita, a segunda desde os Estados sulinos da U.S.A., o México, América Central e a América do Sul;

as *"tarântulas"* do gênero *Lycosa*, principalmente algumas espécies tropicais e subtropicais maiores e finalmente

as *"aranhas armadeiras"* do gênero *Phoneutria*, cujo representante típico é a *Phoneutria fera*, de hábitos agressivos, que ataca ativamente e cujo veneno é de ação intensiva sôbre o organismo humano.

Nos escorpiões encontra-se o aparelho de veneno no interior do *telson*, isto é, no último artículo da cauda. Há também duas glândulas de veneno. mas apenas um ferrão inoculador. Os escorpiões perigosos, sob o ponto de vista da poderosa ação de seu veneno sôbre o corpo humano e que também picam, pertencem aos seguintes gêneros: *Tityus* (*serrulatus, bahiensis, trinitatis*), na América do Sul, *Centraroides* (*sculptaratus, gertschi, gracilis, subgranosus*, etc.). Na América Central, no México e no sul de U.S.A., *Opistophthalmus* e *Hadogenes* da África do Sul, *Androctonus, Buthacus, Buthotus, Buthus, Leiurus* e *Parabuthus* da parte africana e asiática da bacia do Mediterrâneo, o último gênero até a África do Sul, *Heterometrus, Pandinus* e *Scorpio*, da Índia, Arábia e África, respectivamente.

Nas aranhas caranguejeiras as glândulas de veneno se localizam dentro do artículo basal das próprias quelíceras, o canal eferente do veneno é curto, entre a glândula e a ponta do ferrão, onde se abre em fenda; nas aranhas verdadeiras, entretanto, as duas glândulas de veneno estão bastante afastadas do aparelho inoculador, situando-se na parte anterior do cefalotórax, ao lado do estômago. O canal eferente percorre uma parte do cefalotórax, penetra entre a musculatura do artículo basal da quelícera, percorre ainda o ferrão e vem a terminar também numa fenda ao lado da ponta do mesmo. No telson dos escorpiões as duas glândulas de veneno são justapostas, separadas apenas por espêssa camada muscular e um septo divisório conjuntivo; os dois canais eferentes correm paralelamente para trás, por dentro do ferrão e vêm a terminar independentemente um do outro, perto da ponta, do lado, em uma fenda estreita.

Em aranhas e escorpiões é o aparelho inoculador do veneno, dois ferrões em aranhas. um aguilhão nos escorpiões. constituído por um artículo robusto, fortemente quitinizado a terminar sempre em ponta muito aguda, capaz de penetrar fàcilmente pela cútis humana. A posição lateral dos poros, por onde sai o jato de veneno, garante maior eficiência de inoculação. pois a ponta do ferrão abre espaço adiante.

Nos três grupos a glândula de veneno surgiu por simples aprofundamento do exoesqueleto, da epiderme e membrana basal. Isto é fàcilmente comprovado pelo aspecto histológico do canal eferente, cujas porções distais mantém a mesma su-

perposição das três camadas, mas em ordem inversa, isto é, a camada quitinosa por dentro, seguido pelo epitélio e a terminar por fora pela membrana basal.

A glândula de veneno nos três grupos tem a forma de uma ampôla ou de um saco, com a maior largura no meio ou no fundo, enquanto que na região do colo há uma transição paulatina nas caranguejeiras e nos escorpiões da glândula para o canal eferente, e abrupta, com estreitamento abrupto na base do canal, nas aranhas verdadeiras. Esta diferença morfológica se explica pela localização da glândula dentro do órgão inoculador ou longe do mesmo e ainda pela maneira como é esvaziado o conteúdo glandular no exato e curto instante da picada, como veremos adiante.

Nos três grupos existem poderosos feixes musculares, sempre de natureza estriada, voluntários portanto. Têm duas funções. A primeira manter os canais eferentes e as glândulas em seus respectivos lugares, a segunda garantir a expulsão viva, a jato, do veneno no momento da picada, quer do lúmen central das glândulas, quer através do lúmen estreito do canal eferente. A terceira função da musculatura das quelíceras é a de flexores e extensores da garra inoculadora. Esta função é em geral exercida pelos mesmos feixes que nas caranguejeiras mantém a glândula em seu lugar e ao mesmo tempo comprimem ou dilatam o volume do canal; nas aranhas verdadeiras, os músculos flexores e extensores da garra inoculadora, ou músculos adutores e abdutores, exercem simultâneamente o papel de dilatadores e compressores do lúmen do canal eferente. Nos escorpiões, ao contrário, sendo o telson e o aguilhão venenífero constituídos de um só artículo, rígido e sem motilidade própria, o papel de eriçar o telson para a picada é transferido para os poderosos feixes musculares estriados, extensores e flexores do próprio artículo, sitos na própria base do mesmo. Para incrementar o vigor da picada, é êste papel transferido sempre para os cinco artículos caudais antecedentes que, no momento da picada são levantados todos conjuntamente, de maneira que a cauda tôda vem a sobrepassar por cima do pré-abdomen e do próprio cefalotórax, ficando o telson virado para baixo e para fora, com o ferrão prestes a ser projetado, qual catapulta, de encontro à pele da vítima.

Além dessa musculatura, que aciona o aparelho venenífero, mantém no lugar e provê o transporte rápido do veneno pelo canal, existe nos três grupos uma musculatura própria da glândula de veneno, também estriada e que envolve em cada caso o saco glandular.

A musculatura do aparelho de veneno

a) *Adutores e abdutores das quelíceras em aranhas* — Nas aranhas as quelíceras consistem sempre de dois artículos móveis, o basal, robusto, largo e cilíndrico e o terminal ou garra, curvo, pontudo, que penetra na pele da vítima. O último não contém musculatura, a não ser em sua porção basal, exatamente na

dobra dos dois segmentos. Existe nesta região um pequeno esclerito interarticular, que é o responsável pela flexão ou pelo relaxamento do artículo terminal. Neste esclerito inserem-se os adutores, contra-inseridos na base do artículo terminal. No lado oposto, na porção basal do artículo terminal e na porção mediana do artículo basal, inserem e contra-inserem-se os músculos abdutores das garras. Os abdutores e adutores do artículo basal se originem e terminam respectivamente dentro do próprio artículo e dentro da porção anterior do cefalotórax. Nas aranhas caranguejeiras — estudamos *Actinopus*, *Trechona* e várias dezenas de outras espécies — êstes mesmos músculos incluem parcialmente a glândula de veneno e, ao funcionarem, promovem seu esvaziamento ou relaxamento. A própria glândula, com aspecto de cenoura, com a porção mais larga na frente, não sai de seu lugar. Em aranhas verdadeiras temos estudado *Latrodectus curacaviensis*, *Loxosceles rufescens*, *Lycosa erythrognatha* e *Phoneutria fera*. Seus músculos abdutores e adutores dos dois artículos das quelíceras são essencialmente homólogos aos das caranguejeiras, inclusive as inserções no esclerito interarticular, e as contra-inserções ao longo da membrana basal do artículo basal. Como fato novo encontramos neste grupo fibras musculares, a abrirem-se em leque e que se inserem ao longo do canal eferente do veneno, tendo suas contra-inserções num tendão longo, que corre paralelo a êste canal e no qual terminam também fibras dos feixes adutores. Desta maneira, ao se fecharem as quelíceras no momento de morder, é exercida forte tração sôbre as paredes do canal, cujo lume forçosamente se dilata, dando passagem ao veneno. O segundo fato novo, verificado nas aranhas verdadeiras, é a presença de um esfincter muscular, isto é, um anel constritor, formado por feixes musculares circulares, localizado exatamente na base do artículo basal das quelíceras, na zona onde êste penetra na porção fronteira do cefalotórax. A êste anel constritor corresponde exatamente o começo do canal eferente. Dêste anel partem fibras, parcialmente unidas por um tendão, penetram pelo cefalotórax a dentro, e se contra-inserem na porção externa da muscularis da glândula de veneno. A contração dêstes músculos repuxa a glândula tôda para a frente, em direção ao esfincter muscular. Como a glândula não pode passar daí, dá-se forçosamente uma violenta contração da glândula, em sentido de trás para diante, determinando a expulsão do veneno do lume central e sua passagem para o canal eferente.

b) *Musculatura do corpo glandular* — As glândulas de veneno, tanto dos escorpiões, como das aranhas em geral, são rodeadas externamente por um *manto muscular*, que consiste em cêrca de 30 a 150 feixes estriados e que, a começar do colo glandular, rodeiam a glândula em forma de serpentina. As inserções e contra-inserções das fibrilas se dão no sarcolema, que cobre feixe por feixe e a muscularis inteira. Em nenhum caso foi vista uma muscularis própria dos canais eferentes. No fundo do saco glandular os feixes são muito espêssos. Mantém constante o volume glandular e, no momento de sua contração, promovem um esvaziamento total da glândula.

Histologia da glândula de veneno

A glândula de veneno consiste na *muscularis externa*, rodeada pelo *sarcolema*, na *membrana basal* e no *epitélio excretor do veneno*. A comparação de cortes seriados pelas glândulas dos escorpiões *Tityus serrulatus* e *Tityus bahiensis*, das aranhas verdadeiras, *Loxosceles rufescens*, *Latrodectus curacaviensis*, *Lycosa erythrognatha* e *Phoneutria fera*, extraídas de animais anestesiados, fixados em Bouin e com 4 a 5 micra de espessura dos cortes, corados pela hematoxilina-eosina ou segundo Mallory ou van Gieson, permite um estudo bastante comparável entre êstes diversos grupos de artrópodos.

A membrana basal forma em glândulas de animais jovens uma camada simples, contínua, a revestir por dentro a muscularis e a penetrar concêntricamente para dentro do lúmen, cobrindo de espaço a espaço as células excretoras. Nas glândulas mais velhas, em que as células epiteliais preenchem apenas ainda as paredes ao longo da glândula, a membrana também é contínua.

O *epitélio excretor* é do tipo simples. Nos escorpiões e nas aranhas caranguejeiras existem *dois tipos de células*: a primeira camada é formada por células baixas, subcuboidais, com núcleos em repouso, dispostas ao longo da membrana basal e espremidas contra a mesma pelo segundo tipo de células. São células de substituição, isto é, irão substituir as células excretoras, quando estas se desgastarem.

A segunda camada, a principal, é formada por células cilíndricas, colunares, três a quatro vêzes mais longas que largas, que assentam na membrana basal e penetram dentro do lúmen central. Em glândulas jovens preenchem quase inteiramente o lúmen. Sua disposição é serpentiniforme e oblíqua em relação ao eixo longitudinal da glândula. Nas células epiteliais jovens o núcleo se encontra na porção basal; durante a produção de veneno, os núcleos migram ao meio e finalmente até a porção apical da célula excretora, aumentando proporcionalmente em dimensão. No comêço da elaboração do veneno, vêm-se em volta do núcleo subbasal pequeníssimos grânulos. Êstes também migram aos poucos para o meio da célula; aí já se apresentam como gotículas relativamente volumosas. Fazem pressão contra as paredes laterais, de maneira que os contornos celulares agora são salientes para fora. Em fase mais adiantada da elaboração do veneno, as gotículas vêm a formar, por aglutinação, de uma a três ou mesmo cinco gôtas grandes, que se reunem na porção apical da célula, enquanto que na porção mediana e basal há novas formações de novas gotículas ou novos grânulos de veneno. Finalmente, por excesso de pressão, rompe-se uma pequena porção apical da célula excretora, libertam-se as gôtas de veneno que são armazenadas no lume central. A célula, mesmo rompida apicalmente, continua sua produção de veneno, enquanto houver citoplasma e núcleo ativos. Após um certo tempo, entretanto, esgota-se a capacidade funcional da célula, seu núcleo é expulso juntamente com a última quantidade de veneno; ela degenera, sendo então substituida por uma das células "de

substituição" já descritas. Êste tipo de células secretoras pode ser chamado do tipo "*apócrino*", com destruição parcial e finalmente total da célula e sua substituição por uma nova.

Nas aranhas verdadeiras vimos, na porção apical da glândula, em tôrno do colo, justamente onde termina a muscularis externa, um outro tipo funcional de células excretoras. Não existem aí células de substituição. Tôdas são do tipo cilíndrico, muito longas e estreitas, assentes na membrana basal e orientadas de encontro ao lume central. Porém, suas secreções são sempre muito finas, granulares e migram como tais através da célula, desde sua base até ao ápice, onde *difundem* através da membrana celular porosa, mas intacta, para o lúmen central. Estas células não se rompem, pois, e devem ser consideradas como sendo do tipo "merócrino".

Discussão

Bücherl (1 e 2), Barth (3), Brazil e Vellard (4), Ancona (5), Millot (6), Reese (7), Sampayo (8) e Vellard (9) foram os autores principais que se preocuparam com o aspecto morfológico, histológico e funcional das glândulas de veneno de aranhas, devendo salientar-se principalmente os estudos de Vital Brazil e Vellard, em 1925, sôbre a *Phoneutria nigriventer*, e de Barth sôbre a *Latrodectus mactans*. Barth fala de um sistema duplo, da glândula de veneno de *L. mactans*: do tipo merócrino nas glândulas de colo, e do tipo *regióerino*, das glândulas celulares, interpretando as células subcuboidais por nós consideradas como sendo de "substituição" às glândulas cilíndricas esgotadas, como sendo verdadeiras glândulas em função ativa juntamente com as cilíndricas e que se esgotariam ao mesmo tempo como estas. Concluiu então que o veneno elaborado pelas células dos dois tipos irá durar a vida tôda da aranha, mesmo que as células glandulares estivessem mortas já há muito tempo. O produto das células do colo irá "amolecendo" sempre apenas pequenas porções de veneno "endurecido" dentro do lume central da glândula, exatamente um volume tal que seria necessário para uma picada.

Parece-nos que esta interpretação seria um tanto forçada, principalmente quando se toma em consideração que há aranhas que vivem até 6 e 8 anos. Continuamos, ao contrário, a considerar as células glandulares basais, subcuboidais, como sendo células de reserva, que, ao se esgotar a célula principal, assumem o papel desta, de elaborar veneno, sendo substituídas por seu turno por outras subcuboidais, que repousam ao longo da membrana basal.

Sôbre as glândulas de veneno de escorpiões pouco foi publicado desde Phisalix (10) e em têrmos muito imperfeitos por Maurano (11), Melo Campos (12) e Magalhães (13).

Ulteriores estudos, principalmente no tocante às células de colo e à natureza das células subcuboidais são necessários.

RESUMO

No presente trabalho é feito um estudo morfo- e histológico sôbre o aparelho vulnerante, a musculatura e a glândula de veneno de *Tityus serrulatus* e *T. bahiensis*, de algumas aranhas caranguejeiras, *Aetiuopus* sp. e *Trechona venosa*, bem como das espécies *Loxosceles rufescens*, *Latrodectus curacaviensis*, *Lycosa erythrognatha* e *Phoneutria fera*.

Agradecimento — Agradecemos à Da. Maria Aparecida de Toledo Soares, técnica em histologia, a feitura dos cortes e a coloração dos mesmos.

BIBLIOGRAFIA

1. *Bücherl, W.* — *Ciência e Cultura*, **15**(3):243, 1963.
2. *Bücherl, W.* — *Mem. Inst. Butantan* (no prelo).
3. *Barth, R.* — *Mem. Inst. O. Cruz*, **60**(2):275-292, 1962.
4. *Brazil, V.* e *Vellard, J.* — *Mem. Inst. Butantan*, **2**:24-25, 1929.
5. *Ancona, L.* — *An. Inst. Biol.*, México, **2**:77-84, 1931.
6. *Milliot, J.* — *Ann. Sci. Nat. Zool.*, **10**(14):113-117, 1931.
7. *Reese, A. M.* — *Trans. Amer. Micr. Soc.*, **63**:170-174, 1944.
8. *Sampayo, R.* — *Tesis*, Buenos Aires, Univ. Nacional, Fac. Ci. Med. nº 5864, 1942.
9. *Vellard, J.* — *Le venin des Araignées*, Masson éd., Paris, 1936.
10. *Phisalix, M.* — *Scorpions*, Masson éd., Paris, 1922.
11. Maurano, H. R. — Tesis — *Do Escorpionismo*, Jorn. Comércio, Rio, 1915.
12. *Mello Campos, O.* — *Mem. Inst. O. Cruz*, **17**(2):1925.
13. *Magalhães, O.* — *Ann. Fac. Med.*, Belo Horizonte, **4**(1), 1935 e *Mem. Inst. O. Cruz*, **44**(3):425-439, 1946.

BIOLOGIA DE ARTRÓPODOS PEÇONHENTOS *

WOLFGANG BÜCHERL

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

INTRODUÇÃO

O trabalho inclui apenas as duas ordens, *Scorpiones* e *Araneida*, e entre estas apenas as poucas espécies, apontadas pela literatura especializada, como sendo realmente perigosas para o homem. São relatados apenas os dados biológicos mais importantes, em grande parte incompletos ainda. A limitação do espaço nos impôs a omissão da literatura especializada, mesmo da mais importante, pois sua citação bibliográfica ocuparia cêrca de 30 páginas. A classificação e distribuição geográfica dos aracnóides peçonhentos é tratada sucintamente, pois em outro trabalho de nossa autoria já foi considerada.

Refere-se ao acasalamento, gravidez e parturição, domicílios e alimentação, quantidades de veneno que poderão ser injetadas por ocasião da picada e toxicidade do veneno para camundongos. O último item deve ser interpretado apenas como normativo, pois, evidentemente deverão prosseguir os estudos da toxicidade em animais mais sensíveis.

I. *Escorpiões perigosos*

A. *Classificação e distribuição geográfica*

A família SCORPIONIDAE, subfamília SCORPIONINAE abrange os gêneros perigosos, *Heterometrus* (Índia), *Pandinus* (África), *Scorpio* (Mediterrâneo) e *Opisthophtalmus* (África do Sul). Mais importantes são os representantes da família BUTHIDAE, pertencendo à subfamília BUTHINAE os gêneros: *Androctonus*, *Buthacus*, *Leiurus*, *Buthus* e *Parabuthus* (Mediterrâneo, Ásia Menor, África do Norte até Pérsia e África do Sul, à subfamília RHOPALURINAE o gênero *Centruroides* (México, U.S.A.: Estados do Sul) e à subfamília TITYINAE o gênero *Tityus*, com as espécies sul-americanas perigosas: *Tityus serrulatus*, *T. bahiensis* e *T. trinitatis*.

---

* Sob os auspícios do FPIB e NHI. Apresentado no simpósio da XVI[a] Reunião Anual da SBPC, Ribeirão Prêto, 5 a 11 de julho de 1964.

Recebido para publicação em 12/8/1964.

B. *Biologia dos escorpiões*

1) *Acasalamento* — Detalhes do acasalamento, sem interpretação correta foram descritos por Maccary, 1810, por Fabre, 1907, por Pawlowsky, 1924, Piza, 1939/40 e 1943.

Vachon, em 1952, descreveu a emissão de um órgão sexual pelo macho. Bücherl, em 1955, Zolessi, em 1956, Alexander, em 1956/57, Shulow, em 1957/58, descreveram finalmente o acasalamento em *Tityus*, *Bothriurus*, *Opistophthalmus*, *Leiurus* e *Buthotus* respectivamente. O macho emite no acasalamento dois semi-espermatóforos, que, ao serem expulsos, se unem em um tubo ôco, projetado sob o ventre da fêmea. Segurando a esta pelas mãos ou pelas quelíceras, o macho arrasta a mesma por sôbre a ponta apical do espermatóforo, de maneira que a ponta terminal dêste órgão possa penetrar pelo orifício genital da fêmea e promover o transporte do esperma. Após o acasalamento, macho e fêmea se separam. Parece que existem espécies hermafroditas. Mathiessen, em 1961, descreveu *Tityus serrulatus* como hermafrodita, fato totalmente insólito, se se tomar em consideração que do mesmo gênero *Tityus* se conhecem muitas outras espécies, com os sexos separados e que vivem no mesmo biótopo, como por exemplo o *Tityus bahiensis*.

2) *Gravidez e parturição* — Nos ovários de uma fêmea adulta existem cêrca de 300 a 500 oócitos, em diversas fases de maturição. Cada óvulo é fixo, fecundação e desenvolvimento embrionário verificando-se no mesmo local. Daí o nome "ovário-útero". A primeira zona dos vasos deferentes também não está fixamente delimitada, podendo amadurecer aí também óvulos. Portanto, os espermatozóides migram, desde o orifício genital até uma certa porção ovariana, onde são fecundados em cada período anual cêrca de 40 a 50 óvulos. Duas fecundações e duas parturições anuais podem ocorrer em certas espécies. Uma vez fecundado um óvulo e feitas as primeiras divisões celulares, aumenta o volume do ôvo, que empurra a parede ovariana para fora, surgindo assim um "divertículo" de forma esférica, unido ao útero por um pedúnculo. Com o ulterior desenvolvimento do embrião, o divertículo aumenta em dimensões, funcionando como uma "câmara de incubação". No polo distal desta câmara surge aos poucos um "cordão" cilíndrico, que termina num "botão umbilical" e cuja comunicação com a câmara é regulada por uma "válvula". O embrião é dirigido com a cabeça contra o cordão cilíndrico. Na fase final do desenvolvimento embrionário, a câmara é tão grande e sua parede externa tão fina e transparente, que se pode observar perfeitamente o embrião, após remoção da carapaça do pré-abdomen materno. A esta altura o embrião ocupa também o pedúnculo, que agora é tão largo quanto a câmara. Quando o embrião adquire mobilidade própria, êle se liberta do cordão e passa pelo pedúnculo, penetrando no lúmen ovarial. O cordão degenera, como também a câmara, inclusive o botão umbilical. O embrião caminha pelo

ducto uterino, os vasos deferentes, a vagina e força a passagem pela abertura genital. O botão umbilical, sob a forma de uma massa dura, marrom, é muitas vêzes encontrado na vagina. Ao nascer, já está rompida a película embrionária ou a mesma é desfeita pela mãe. O embrião sobe em frente à bôca da mãe, por entre as quelíceras, por cima do cefalotórax e se instala sôbre as reentrâncias do pré-abdomen.

3) *Fase larval* — O embrião, ao nascer, pode ser chamado de larva, porque sua forma externa ainda está longe de ser a de um exemplar adulto. Não apresenta pêlos, suas garras não são completas, o ferrão não tem aberturas para o esvaziamento das glândulas de veneno, etc. Apenas após a segunda troca de pele, êles adquirem a forma definitiva, abandonam a mãe e fazem vida independente.

4) *Alimentação* — Todos os artrópodos e insetos são atacados, dominados e comidos, com franca preferência dos de corpo mole. A caça é noturna e fortuita, isto é, o escorpião sai à noite em busca de prêsa. Geralmente não enxerga nem espreita a mesma, mas perambula com as mãos e os dedos distendidos, guiado apenas pelos longos pêlos táteis aí existentes. Quando pressente algum animal que se move, fecha os dedos resolutamente e apreende a prêsa. Só então toma conhecimento das dimensões e do vigor da mesma. Mantém-na à distância de seu próprio corpo e, quando a mesma se defende, dobra a cauda e o aguilhão de veneno para a frente e injeta nela seu fulminante veneno; quando a mesma não resiste, êle a leva diretamente às quelíceras, que arrancam pedaços. Os escorpiões podem alimentar-se quase todo o dia, mas também são capazes de jejuar alguns meses. Água êles bebem com freqüência.

5) *Domicílios dos escorpiões* — Há escorpiões de floresta, de campo, de semi-deserto e de deserto. Os primeiros apresentam geralmente côr escura e são pouco perigosos; os de campo chegam até a côr de chocolate e os últimos são bem mais claros ou mesmo amarelos. Todos são capazes de escavar ativamente o solo, transportar a terra removida, construir um corredor quase vertical ou inclinado até a profundidade de 10 a 60 cm, com uma ou duas câmaras de aeração e ventilação para equilibrarem o microclima. De dia estão nestes domicílios, de noite caçam em volta dos mesmos. Os escorpiões semi-desérticos e desérticos e, em escala menor, os de campo, mudam-se para residências humanas, quando a ocasião fôr propícia e vivem aí perfeitamente. Infestações por *Tityus serrulatus* têm ocorrido em Ribeirão Prêto, em Belo Horizonte, por *Tityus bahiensis* em Ouro Prêto principalmente, para citar apenas algumas cidades.

6) *Aparelho de veneno* — Consiste em um ferrão no fim da cauda, ponti-agudo e curvo para trás. Dos lados do ferrão, perto da ponta e em posição francamente lateral estão os dois poros de saída do veneno, em forma de elipse. No interior existem dois canais eferentes separados, cada um se originando de uma glândula. As duas glândulas apresentam a forma de um saco com a parte

mais larga no meio. Por fora da glândula há uma robusta muscularis, às vêzes dupla. Segue-se uma delicada membrana basal e as células excretoras de veneno, cilíndricas, nucleadas, que elaboram o veneno em finíssimos grânulos na porção basal. Os grânulos migram aos poucos para o centro da célula, daí para a porção apical, aumentando progressivamente em tamanho pela fusão de grânulos. Finalmente o veneno é despejado para o lúmen central por rompimento de uma porção apical da parede celular. A célula mesmo assim continua funcionando e elaborando nova porção de veneno e assim por diante até que o próprio núcleo seja eliminado também para o lúmen central. A célula então degenera, sendo substituída por uma célula basal adjacente, até aqui de aspecto cúbico.

7) *Quantidades de veneno* — 141.285 extrações elétricas de *T. serrulatus* e 45.990 de *T. bahiensis*, feitas durante os anos de 1953 a 1963, forneceram as seguintes médias de veneno puro sêco por *T. serrulatus* — 0,62 mg e por *T. bahiensis* — 0,39 mg. Aferições individuais deram até 4 mg como valôres máximos para as duas espécies.

8) *Toxicidade do veneno escorpiônico* — Varia significativamente de animal para animal. No homem sempre se manifesta uma dor pungente, forte, desde o início da picada, perdurando cêrca de 5 a 7 horas, quando não neutralizada por analgésicos. Em seguida há comprometimento rápido do sistema nervoso, principalmente o que regula a respiração, a sudorese e a inervação das glândulas e aparelhos revestidos por musculatura lisa e que, em casos graves, pode evoluir ràpidamente até a inconsciência e morte por parada respiratória com tetanismo imediato. Intoxicação, progressão do veneno e sua eliminação no homem processam-se sempre muito ràpidamente. Cêrca de seis horas após o acidente o veneno já se encontra em fase de eliminação e neutralização. As picadas de *Tityus serrulatus*, *T. trinitatis*, de *T. bahiensis* em parte, na América do Sul, de *Centruroides noxius*, *limpidus*, *suffusus* no México, de *C. sculpturatus* no Arizona, de *C. vittatus* e *gertschi* no Texas, de *Parabuthus granulatus*, *capensis* e talvez de algumas espécies de *Hadogenes* e *Opistophthalmus* na África do Sul, de *Androctonus aeneas*, *amoreuxi*, *australis*, *crassicauda*, *marroccanus*, de *Buthus occitanus*, *Buthotus judaicus*, de *Leiurus quinquestriatus* principalmente e ainda de *Buthacus arenicola*, todos êstes de Marrocos, Algéria, Líbia, Egito, Palestina, Síria, Arábia, Pérsia, raras vêzes sul da Espanha e Itália, Grécia, etc., são consideradas como as mais perigosas, podendo causar a morte humana. Wilson relatou em 1904 diversas mortes no Sudão; segundo Sitt, em 1923, *L. quinquestriatus* causaria a morte em 50% das crianças acidentadas; Waterman estabeleceu uma quota de 25% de mortalidade, em 1957, por picada por *T. trinitatis*; Bücherl, em 1952, calculou a mesma percentagem em crianças, picadas em Ribeirão Prêto por *T. serrulatus*; Magalhães, em 1935, enumerou 874 acidentes em Belo Horizonte, ocorridos com o mesmo escorpião, com 100 mortes; segundo autores mexicanos verificaram-se em Durango, durante os anos de 1890 a 1926, 1.608 mortes por picada escorpiônica.

II. *Aranhas perigosas* (ordem *Araneida*)

A. *Classificação e distribuição geográfica*

Na subordem das CARANGUEJEIRAS (ORTHOGNATHA) existe a família DIPLURIDAE, subfamília DIPLURINAE, com o gênero sul-americano perigoso *Trechona*, e na subfamília MACROTHELINAE o gênero temível, *Atrax*. As caranguejeiras gigantes, às vêzes com mais de 12 ou mesmo 20 cm de uma ponta da perna à outra, pertencem à família THERAPHOSIDAE, subfamília THERAPHOSINAE, com os gêneros principais: *Theraphosa*, ao norte do Amazonas; *Acanthoscurria*, Brasil Central, Estado de São Paulo; *Pamphobeteus*, tôda a parte sêca, alta da América do Sul até o Trópico do Capricórnio; *Lasiodora*, Rio de Janeiro, Bahia; *Xenesthis* e *Megaphobema*, as maiores caranguejeiras da Colômbia até ao rio Purús, mais ou menos. À subfamília das AVICULARIINAE pertence o gênero amazônico da *Avicularia*, cujas principais espécies são dendrícolas e à subfamília GRAMMOSTOLINAE pertence o gênero *Grammostola* do Chile, Argentina, Uruguai, Paraguai e sul do Brasil. À família BARYCHELIDAE, subfamília LEPTOPELMATINAE pertence o temível gênero sul-africano, *Harpactirella*.

Na subordem das aranhas verdadeiras (LABIDOGNATHA) há comprovadas quatro famílias com representantes perigosos: à família das SICARIIDAE pertencem as famosas aranhas noturnas, de 6 olhos, do gênero *Loxosceles*, com as espécies mais importantes, *L. rufescens* da Espanha, Itália e América do Sul, *L. rufipes* da América Central e Sul, *L. reclusa* dos Estados sulinos de U.S.A. e *L. spadicea* do Rio Grande do Sul, além de outras. A família das THERIDIIDAE compreende, entre outros, o conhecido gênero das "Viúvas Negras" — *Latrodectus* — com as seguintes espécies e subespécies principais:

Latrodectus geometricus — tropical e subtropical cosmopolita;

Latrodectus curacaviensis — desde o Canadá até a Patagônia e

Latrodectus mactans mactans — desde os U.S.A. até a Argentina e Chile, *L. mactans tredecinguttatus* — Mediterrâneo até a Índia e África, Abissínia e Arábia, *L. m. cinctus* da Abissínia, África Oriental e principalmente do Sul, *L. m. menavodi* de Madagascar, *L. m. hasselti* da Austrália, Nova Zelândia até a Índia.

Da família LYCOSIDAE, de caráter tropical, subtropical e com invasão ativa das zonas temperadas de todos os continentes, conhecem-se algumas espécies tropicais e subtropicais mais ou menos perigosas, pertencentes ao gênero *Lycosa*. *L. erythrognatha* é comum em todo o Brasil. A família CLUBIONIDAE inclui o gê-

nero *Cheiracanthium*, apontado também como tendo espécies venenosas. CTENIDAE inclui o famoso gênero *Phoneutria*, com as espécies brasileiras mais conhecidas, *Phoneutria fera* e *ocharacea*. ARANEIDAE compreende apenas o gênero *Mastophora* ou *Glyptocranium*, com a famosa "aranha-bolas" dos vales viníferos do Perú.

B. *Biologia*

1) *Acasalamento* — Sôbre o acasalamento de *Trechona*, *Atrax* e *Harpactirella* nada se sabe, senão por analogia para com os representantes de THERAPHOSIDAE, que foram minuciosamente estudados por Bücherl, em longos anos desde 1949 a 1962. O macho adulto constrói uma teia "espermática", derrama sôbre ela o líquido fecundante e carrega seus dois bulbos copuladores; procura então ativamente uma fêmea; executa certas manobras pré-nupciais; segura então a consorte pela frente e transmite os espermatozóides às espermatecas da mesma, sendo muitas vêzes morto pela fêmea imediatamente depois. Nas aranhas verdadeiras o papel ativo também é executado pelo macho; mas, após o acasalamento o mesmo vai livremente embora, sem ser molestado pela fêmea, que fica como que "desmaiada", principalmente em *Phoneutria* e *Lycosa*. Os machos costumam construir novas teias espermáticas, preencher novamente seus bulbos e fecundar outras fêmeas. Merece menção a "Viúva Negra", em que o macho é cêrca de 10 vêzes menor que a fêmea; é, por esta tolerado na teia, recebe alimento da mesma e costuma demorar-se mesmo sôbre o ventre da gigantesca consorte, perto da abertura genital da mesma. O bulbo em *L. m. mactans* e em *L. curacaviensis* ostenta um êmbolo muito longo, frágil e enrolado, correspondendo ao mesmo um canal eferente das espermatecas da fêmea também longo, enrolado como uma serpentina. Compreende-se assim que, em muitas fêmeas, têm-se encontrado restos do êmbolo quebrado do macho, que ficam dentro dos canais das espermatecas. Após o acasalamento, o macho, segundo nossas observações, não é morto pela companheira, mas morre naturalmente, achando-se então o cadáver dependurado na teia, fato êste que, provàvelmente, deu origem à lenda do uxoricídio nas viúvas negras.

2) *Crescimento e duração de vida* — Em *Loxosceles* nascem cêrca de 50 a 70 indivíduos após uma postura. As ootecas são transparentes, porque construídas no escuro. Os filhotes, após a segunda muda de pele, tomam vida independente, perto dos esconderijos das mães, chegando assim a formar verdadeiras colônias. Após cêrca de um ano ficam adultos, procriam por seu turno e morrem naturalmente entre um ano e meio a dois anos após o nascimento. Pouco foi observado sôbre os Loxoscelídeos.

As "*Viúvas Negras*" foram melhor estudadas, se bem que nada ainda se saiba sôbre o desenvolvimento post-embrionário e embrionário. As fêmeas de *L. mactans*

e *L. curacaviensis* e *geometricus*, observadas por diversos anos em nossos laboratórios, costumam construir, em dias sucessivos, entre 3 e 5 ootecas, completamente esféricas, com um diâmetro entre 7 a 11 mm, brancas nas duas primeiras espécies e com superfície lisa, amareladas ou cinzentas e com "espinhos" em *geometricus*. Nas três espécies são as primeiras ootecas construídas com grande esmero, enquanto que as últimas são menos cuidadas, fôfas e não mais tão esféricas. Fato êste que levou Abalos a descrever espécies novas para Santiago del Estero. O que está errado. Os filhotes de *Latrodectus*, após a segunda troca de pele, trepam sôbre arbustos, tecem uma teia fôfa e se deixam levar pelo vento, às vêzes centenas de quilômetros, em procura de um novo habitat. Cêrca de um ano após o nascimento ficam adultos, acasalam e procriam, vivendo as mães ainda em média cêrca de 4 a 5 meses nas condições naturais. Em laboratório podem ser conservadas mais de 3 anos, sem macho. Não procriam mais, mas vivem e se alimentam perfeitamente.

As espécies de *Lycosa* trocam entre 8 a 12 vêzes de pele durante a juventude; acasalam cêrca de 12 a 14 meses após o nascimento; após um único acasalamento as fêmeas constroem sucessivamente, isto é, após a dispersão dos filhotes da postura anterior até quatro ootecas esféricas, com cêrca de 1.000, 800, 600 e 300 ovos e mais uma quinta ooteca, em que entre os ovos perfeitos são depositados também oocitos e restos foliculares até ao esgotamento completo dos ovários. As ootecas são esféricas e afixadas nas fiandeiras. Os filhotes usam o corpo da mãe como primeiro "trampolim" para a liberdade. As mães costumam morrer após a última postura, geralmente quando os filhotes ainda estão sôbre seu corpo. Em cativeiro, entretanto, temos constatado que se pode prolongar a vida média das fêmeas (de 18 meses geralmente) por mais de um ano ou mesmo mais. Quanto ao desenvolvimento dos filhotes, pudemos constatar que irmãos, sob as mesmas condições de ambiente, temperatura, umidade e alimentação — pesquisas feitas em cêrca de 3.000 exemplares — são influenciados pela alimentação. Os "comilões" trocam de pele em intervalos mais curtos, crescem mais depressa e atingem a maturidade em tempo mais curto, procriam e morrem mais cedo; os "retardatários" trocam de pele em intervalos mais longos, crescem mais devagar e ficam maduros mais tarde, vivendo, portanto, mais tempo. A diferença é significativa, pois perfaz de 2 a 3 meses.

O comportamento de *Phoneutria* é paralelo ao de *Lycosa*, com a diferença que *Phoneutria* leva cêrca de 3 anos a 3 anos e meio até ficar adulta e procriar. As fêmeas também costumam construir 3 a 4 ootecas sucessivas, se esgotam nos cuidados maternos e morrem após a última cria em seu quarto ano de vida.

Nos quatro grupos foi visto que o ambiente de laboratório é muito mais favorável às aranhas do que a vida na natureza.

3) *Hábitos de vida* — *Loxosceles* é estritamente noturna; as *Viúvas Negras*, *Lycosa* e *Phoneutria* são vespertinas ou noturnas. *Loxosceles* é séssil a vida tôda

em sua teia do tipo "lençol", construída no escuro, sob telhas, tijolos, madeiramento, em buracos e nas casas, nos cantos escuros, sob móveis, quadros, armários, etc.; *Latrodectus* também é séssil em sua teia, construída parcialmente em lugar escuro e com fios de captura de cêrca de 1 metro de comprimento ao longo do solo: *Lycosa* é vagabunda na juventude e durante as estações mais quentes, fica séssil nos meses de frio e enquanto as fêmeas cuidam da prole. Constroem, então, funis de tecido dentro do solo até 10 ou 30 cm de profundidade, onde fazem câmaras de maternidade e de onde saem à noitinha para as caçadas. *Phoneutria* é vagabunda na juventude e depois das posturas, ficando séssil apenas durante os trabalhos de maternidade. Não constroem teias nunca. Caçam à noite. *Lycosa* e *Phoneutria* podem penetrar em casas humanas ativamente, *Loxosceles* passivamente.

4) *Aparelho de veneno* — Há em tôdas as aranhas duas pinças de veneno, que se movimentam verticalmente nas Caranguejeiras e horizontalmente nas aranhas verdadeiras. Os canais eferentes dos venenos percorrem as pinças e terminam num poro na parte lateral perto da ponta. As glândulas de veneno se situam nas Caranguejeiras no próprio artículo basal das quelíceras, enquanto que nas aranhas verdadeiras o canal eferente percorre também o artículo basal das quelíceras, apresentando em *Lycosa* e em *Phoneutria* um alargamento vesicular, uma espécie de ampôla coletora de veneno no artículo basal, situando-se as glândulas de veneno dentro do cefalotórax. As glândulas têm aspecto de um saco; são afinadas posteriormente nas caranguejeiras, mais cilíndricas nas verdadeiras. A musculatura flexora e extensora das quelíceras, enquanto se contrai ou se distende, exerce simultâneamente pressão ou tração sôbre as glândulas, provocando a expulsão rápida e violenta tanto do veneno, armazenado no lúmen glandular, como, nas aranhas verdadeiras, do veneno retido na ampôla coletora do canal eferente.

As glândulas de veneno em *Loxosceles* medem em média 1,7 por 0,3 mm de comprimento e largura, em *Latrodectus* 1,6 por 0,3, em *Lycosa* 4,9 por 1,0 e em *Phoneutria* 8,2 por 2,5 mm respectivamente. As glândulas de veneno apresentam externamente uma muscularis robusta, constituída de feixes estriados serpentiniformes, inseridos na própria glândula e muitas vêzes sobreposta em 2 ou até 3 camadas, uma circular, outra tangencial, a terceira longitudinal. A membrana basal é delicada, revestindo internamente a camada muscular. O epitélio é simples, apresentando nas caranguejeiras dois tipos de células: células cilíndricas altas, em processo ativo de elaboração do veneno, e células cúbicas, coladas à membrana basal, ao lado das células altas e que irão substituir as últimas, quando degenerarem. Nas aranhas verdadeiras temos observado igualmente êstes dois tipos de células. Porém, na região do colo da glândula, onde termina a muscularis, há um terceiro tipo de células exeretoras de veneno, cilíndricas também, mas de duração e funcionamento permanentes. São merócrinas, enquanto que as do primeiro tipo podem ser consideradas como apócrinas.

5) *Quantidade de veneno* — As quantidades médias e máximas de veneno sêco, obtido por choque elétrico e guardado em vácuo, por aranha, são as seguintes:

TABELA 1 — QUANTIDADE DE VENENO SÊCO OBTIDO POR CHOQUE ELÉTRICO DE ARANHAS

Aranhas	Veneno em mg	
	Média	Máxima
Loxosceles	0,100	1,500
Latrodectus	0,100	1,500
Lycosa	1,000	2,050
Phoneutria	0,850	8,000
Trechona	1,400	3,600
Acanthoscurria	2,400	8,900
Pamphobeteus	2,200	3,400
Lasiodora	2,400	3,600

TABELA 2 — TOXICIDADE DE VENENOS DE ARANHAS DMM PARA CAMUNDONGOS DE 20 g POR VIA VENOSA E CUTÂNEA

Aranhas	DMM em mg	
	Via venosa	Via cutânea
Trechona venosa	0,030	0,070
Grammostola mollicoma	0,500	1,000
Eurypelma rubropilosum	0,350	0,850
Eupalaestrus tenuitarsus	0,950	2,100
Pamphobeteus roseus	0,850	1,700
Pamphobeteus tetracanthus	0,600	1,400
Acanthoscurria sternalis	0,300	0,620
Lasiodora klugi	0,640	1,200
Loxosceles rufipes e rufescens	0,200	0,300
Latrodectus curaçaviensis	0,170	0,240
Latrodectus m. mactans	0,110	0,200
Lycosa erythrognatha	0,080	1,250
Phoneutria fera	0,007	0,013

ARANHAS DA FAMÍLIA *CTENIDAE*, SUBFAMÍLIA *CTENINAE*

I. REDESCRIÇÃO DOS GÊNEROS *CTENUS* WALCKENAER 1805 E *PHONEUTRIA* PERTY 1833 *

WOLFGANG BÜCHERL, SYLVIA LUCAS e VERA DESSIMONI

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Introdução

As aranhas dos gêneros *Ctenus* e *Phoneutria* chamam a atenção por possuírem veneno bastante ativo mesmo sôbre mamíferos superiores e o homem e por picarem. *Ctenus* foi descrito em 1805 por Walckenaer (1) e *Phoneutria* em 1833 por Perty (2). O mesmo Walckenaer, em 1837 (3), Keyserling, em 1891 (4), Simon, em 1897 (5), F. Cambridge, em 1897 e 1902 (6 e 7), Strand, 1907 (8), Vital Brasil e Jehan Vellard, em 1924 (9) e, nos últimos decênios, Petrunkevitch, Comstock, Roewer, G. Schmidt e outros, não tendo visto diferenças genéricas em representantes de ambos, aboliram o nome *Phoneutria*, deixando valer apenas o gênero *Ctenus*. C. Koch (10), que manteve a validade dos dois gêneros em 1848, ocupava uma posição totalmente isolada. Mello Leitão, de adepto do gênero único, passou a readmitir em 1936 (11) o *Phoneutria*, no que foi seguido por Caporiaco em 1948 (12). Bücherl, em 1953 (13 e 14) e em 1956 (15 e 16) pressupunha os dois gêneros como válidos, mas nenhum dos três últimos autores insistia em recaracterizar a ambos.

Por outro lado, são patentes as profundas diferenças biológicas, as dimensões, a agressividade, a feitura das ootecas, a maneira como as fêmeas cuidam das mesmas, o ciclo de vida, a maneira de capturarem a prêsa, a convivência no mesmo biótopo sem acasalamento algum, não deixando dúvidas sôbre a coexistência dos dois gêneros. Sob estas premissas impõe-se a redescrição morfológica comparada para estabelecer os caracteres diferenciais dêstes dois importantes gêneros.

Material e métodos

Centenas de exemplares de várias espécies de *Ctenus* e *Phoneutria*, machos e fêmeas e também jovens, procedentes de cêrca de 50 localidades brasileiras di-

* Trabalho realizado com auxílio do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan (FPIB) e referido na XV[a] Reunião Anual da SBPC, Ribeirão Prêto, 5-11 de julho de 1964.

ferentes, desde Amazonas e Pará até o Rio Grande do Sul, foram minuciosamente estudados no tocante à posição dos olhos, à dentição do sulco ungueal, ao colorido, à espinulação das pernas e dos palpos, às escópulas dos tarsos, à dentição das garras das pernas, às relações de medidas das pernas e da patela e tíbia I e IV em relação ao comprimento e à largura do cefalotórax e, principalmente, no tocante à forma do epígino das fêmeas e o bulbo copulador dos machos.

Redescrição de Ctenus e Phoneutria

1. *Caracteres semelhantes aos dois gêneros*

Ambos pertencem à família CTENIDAE, com oito olhos em três filas (dois na primeira, quatro na segunda e dois na terceira fila), com apenas duas garras nos tarsos das pernas, parcialmente escondidas por entre os tufos subungueais, com uma fímbria de pêlos longos na face interna dos lobos maxilares, que se estende também pelo ápice, com seis fiandeiras, sem cribelo nem calamistro.

Pertencem ainda à mesma subfamília Cteninae, com lábio mais longo que largo, dilatado um pouco no meio e escavado na base, que é mais estreita, atingindo em comprimento cêrca de meia altura dos lobos maxilares, pernas com cinco (raras vêzes com apenas quatro) pares de espinhos negros na face ventral das tíbias I e II e três pares nas tíbias III e IV, sendo um par apical e podendo existir alguns espinhos laterais.

Entre os diversos gêneros desta subfamília, os dois, ora em estudo, ainda têm em comum: margem inferior das quelíceras com 5 dentes desiguais, isto é, o 5.º é quase obsoleto; a 2.ª fila ocular apresenta-se procurva ou mesmo reta, de maneira que uma reta, tangente à borda posterior dos médios, passa atrás dos laterais ou é tangente também à sua borda posterior; o lábio atinge pelo menos a metade do comprimento dos lobos maxilares; além dos cinco pares de espinhos inferiores nas tíbias I e II — o par distal é menor — existem um ou dois espinhos laterais nas faces anterior e posterior (as fêmeas têm menor número de espinhos laterais do que os machos), o último artículo das fiandeiras superiores é mais longo que o mesmo das fiandeiras inferiores; o perfil cefalotorácico atinge sua maior elevação na região do sulco torácico, decaindo levemente em direção aos olhos ou ambos estão à mesma altura; na margem superior das quelíceras há três dentes, o médio grande, os restantes menores; a espinulação dos palpos e das pernas diverge entre os dois sexos, mas é pràticamente igual nos dois gêneros. Pernas I e II: entre 8 a 12 espinhos dorso-laterais, sem ventrais no fêmur; na patela, sem ou com um espinho, nas fêmeas geralmente, ou mesmo com um espinho em cada face lateral nos machos; tíbia com 5 pares ventrais (um par distal, menor, incluído) e com zero a um ou dois nas faces anterior e posterior (fêmeas muitas vêzes com zero em ambas ou em uma face); metatarso com três pares

de espinhos inferiores; tarsos sem espinhos. Pernas III e IV com cêrca de 11 espinhos dorso-laterais; patela com um espinho nas faces anterior e posterior; tíbia com três pares ventrais, 1 par anterior, 1 par posterior e 3 dorsais; metatarso III e IV com numerosos espinhos em *Phoneutria* e em muitas espécies de *Ctenus;* em outras espécies do último gênero existem curtos espinhos negros do tipo de espículas; tarsos sem espinhos. Escópulas nas faces ventrais dos artículos das pernas: completas, isto é, desde o ápice até a base, em todos os tarsos; completas ainda nos metatarsos I e II nas fêmeas e machos de *Phoneutria* e nas fêmeas de *Ctenus;* nos machos dêste gênero só na metade apical em muitas espécies; nos metatarsos III e IV escópulas nos dois terços apicais do artículo nas fêmeas, decrescendo nos machos, isto é, mais ou menos na metade distal no III e na metade apical ou menos no IV, principalmente em *Phoneutria;* nos machos de *Ctenus* as escópulas são mais ralas, em algumas espécies mesmo ausentes no IV metatarso. Nas fêmeas de *Phoneutria* há escópulas até os dois terços apicais na tíbia I e até a metade apical na tíbia II, o que não ocorre nos machos nem em *Ctenus.*

Relações de medidas das pernas (tôdas as medidas foram aferidas em 11 exemplares para cada gênero e cada sexo):

	Comprimento das pernas em cm				Patela + tíbia		Compr. e largura do cefalotórax (cm)
	I	II	III	IV	I	IV	
a) *Phoneutria*:							
fêmeas	4,44	4,22	3,60	4,75	1,78	1,66	1,43:1,09
machos	6,05	5,46	4,41	6,11	2,23	2,02	1,37:1,05
b) *Ctenus*:							
fêmeas	2,64	2,43	2,14	2,95	1,04	1,03	0,80:0,64
machos	3,39	3,12	2,69	3,63	1,31	1,19	0,86:0,67

2. *Caracteres que separam os dois gêneros*

a) *Escópula veludosa de pêlos nos palpos* (fig. 1) — Todos os representantes de *Phoneutria,* machos, fêmeas e filhotes, apresentam invariàvelmente uma densa escópula veludosa, formada por longos pêlos sedosos enfileirados e dirigidos no mesmo sentido, presente na face interna do fêmur, patela, da tíbia e do tarso dos palpos. Esta escópula não existe em *Ctenus,* em que, na mesma face, há os pêlos comuns, longos e curtos, que nunca formam escópula uniforme.

Fig. 1

a) *Ctenus* — desenho esquemático do palpo direito do macho. Vista lateral interna.

b) *Phoneutria* — desenho esquemático do palpo direito do macho. Vista lateral interna.

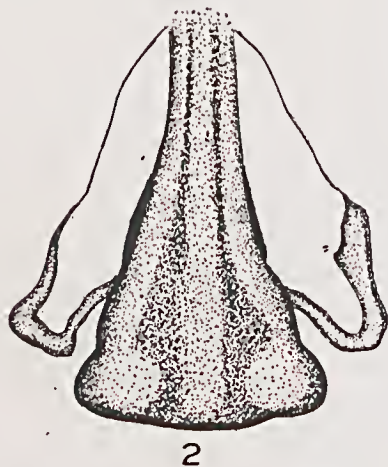



Fig. 2 — *Phoneutria* — epígino.

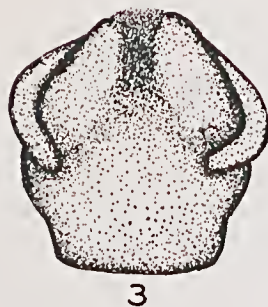



Fig. 3 — *Ctenus* — epígino.

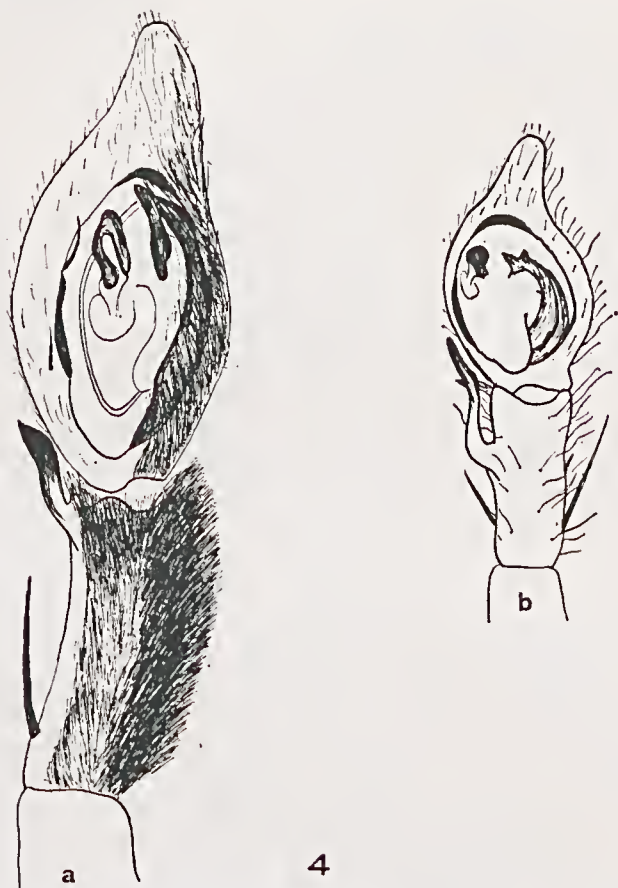



Fig. 4

a) *Phoneutria* — desenho esquemático da tíbia e tarso do palpo direito do macho. Vista ventral.

b) *Ctenus* — desenho esquemático da tíbia e tarso do palpo direito do macho. Vista ventral.

b) *Aspecto dos epíginos nas fêmeas* (figs. 2 e 3) — Dimensões do epígino nos dois gêneros (medidas em 10 fêmeas):

	Phoneutria (mm)	*Ctenus* (mm)
Comprimento na linha mediana, longitudinal	2,7	2,7
Largura na frente	0,6	2,6
Largura atrás	1,9	1,7

Embora possam variar os valores absolutos de espécime a espécime. não varia esta relação diferencial entre o comprimento e as respectivas larguras. Em *Phoneutria* o epígino é muito mais longo que largo, em *Ctenus*, pelo contrário, é tão ou mais largo que longo. A comparação das figuras 2 e 3 mostra a diferença profunda entre os epíginos dos dois gêneros, dispensando qualquer comentário.

c) *Tíbia e bulbo copulador dos machos* (fig. 4) — Embora a correta apreciação das diferenças genéricas da tíbia e do bulbo copulador dos machos exija uma certa experiência é, contudo, possível separarem-se as espécies dos dois gêneros, quando se tomam os caracteres em conjunto: a apófise tibial dos machos de *Phoneutria* é uma só, não ultrapassando a metade do comprimento da tíbia; o alvéolo do tarso é elipsóide e o êmbolo, dirigido para a frente, termina em ponta aguda, simples, perto da borda anterior do alvéolo. Em *Ctenus*, ao contrário, a apófise tibial é geralmente dupla, com um ramo curto e o outro longo e sinuoso, quase tão longo quanto é o comprimento da própria tíbia, ou então, há uma apófise tripla, sendo o terceiro ramo quase obsoleto. Nas poucas espécies em que a apófise é única, ela é longa e sinuosa. Quando fôr mais ou menos igual à de *Phoneutria*, tem implantação diferente na tíbia, o que lhe dá uma posição diversa. O êmbolo em *Ctenus* tem, perto da ponta, uma ou duas apófises laterais, pequenas e a própria ponta é curta e recurva, chegando a terminar longe da borda anterior do alvéolo bulbar. Ademais, apresenta-se a borda superior do alvéolo e do bulbo de *Phoneutria* coberta pela escópula veludosa já descrita, o que nunca se verifica em *Ctenus*.

Discussão

Quando Walckenaer descreveu pela primeira vez o gênero *Ctenus*, referiu-se apenas aos olhos, ao lábio e ao comprimento dos três primeiros pares de pernas. Perty, autor do gênero *Phoneutria*, desconhecia a publicação de Walckenaer, pois comparou seu gênero com *Lycosa* e não com *Ctenus*, com cuja descrição coincide a sua, com exceção dos olhos laterais da segunda fila. É lógico, pois, que Walckenaer, quando voltou ao assunto em 1837, e não tendo visto os espécimes de

Perty, os tivesse colocado sob seu gênero *Ctenus*. Especial destaque merece Koch que, em 1848, conhecendo tanto os trabalhos de um como do outro autor, insistiu no valor genérico de *Phoneutria*, descrevendo uma espécie nova, *Ph. ochracea*. A plêiade dos autores posteriores, não dando importância ou não sabendo interpretar o valor sistemático dos epíginos e dos bulbos copuladores e não tendo descoberto a escópula na face interna dos artículos dos palpos em *Phoneutria*, de fato, não podia distinguir ou separar os dois gêneros, pois, abstraindo-se dêstes três fatos, nada há que realmente os separe. Os fatos biológicos separam profundamente os dois gêneros. Milhares de espécimes do gênero *Phoneutria* foram observados em laboratório e na natureza. Confusão com *Ctenus* não é possível. Também a forma externa de *Phoneutria* não admite dúvida. É, em geral, duas vêzes maior que *Ctenus*, suas pernas são duas vêzes mais longas; a implantação dos espinhos negros em manchas brancas, nas fêmeas, é inconfundível, pelo menos na espécie mais freqüente; sua agressividade de "armar o bote" quando se sente melindrada e finalmente a imponente ação de seu veneno e sua ooteca inteiramente branca e achatada como "dois pratos de sopa sobrepostos" não nos permitem duvidar de que *Phoneutria* é gênero bom e válido, confirmado agora por três caracteres básicos, objetivos, morfológicos.

Resumo

No presente trabalho são redescritas as diferenças entre os gêneros *Ctenus* e *Phoneutria*, ressaltando-se que *Phoneutria* é gênero bom e independente, embora aparentado com *Ctenus*. As escópulas na face interna dos artículos dos palpos, os epíginos nas fêmeas e o conjunto das apófises tibiais e dos bulbos nos machos, separam nìtidamente os dois gêneros.

Summary

Both genera, *Ctenus* and *Phoneutria*, are redescribed. The presence of scopula on the inner face of the articles of the palpus in *Phoneutria*, the differences in epigyna and the male palpal organ as well as the tibial spurs on the males, are justifying the coexistence of both genera. The opinions of older authors are discussed.

Zusammenfassung

An Hand von vielen hunderten von Exemplaren aus ganz Brasilien, werden in dieser Arbeit die charakteristischen Gattungsmerkmale von *Ctenus* und *Phoneutria* neu beschrieben, besonders um *Phoneutria*, zu dem die giftigsten Spinnen Südamerikas und der Welt gehören, wiederum definitif in die Systematik einzuführen.

Phoneutria unterscheidet sich von *Ctenus* durch folgende drei, grundlegende Merkmale:

a) Das Vorhandensein an der Innenseite der Palpen einer samtigen Haarbepolsterung am Femur, Patella, Tibia und Tarsus;

b) Die Epigyne ist lang und vorne schmal und wird nur hinten breiter, während bei *Ctenus* dieselbe breiter als lang ist und besonders vorne sehr breit ist (siehe Figuren 2 und 3);

c) Die Männchen von *Phoneutria* haben nur einen Tibialsporn an der Tibia der Palpen; *Ctenus* hat manchmal drei, meistens zwei, nur sehr selten einen Tibialsporn. Im letzten Falle ist dieser sehr lang, fast so lang wie die Tibia oder nur wenig kürzer. Der Embolus der Kopulationsbulben ist bei *Phoneutria* in der Ruhestellung nach vorne gewandt, hat eine einfache konische Spitze, die nahe am Alveolus endet; bei *Ctenus* zeigt die Embolusspitze eine oder zwei Seitenapophysen, die Spitze selber ist mehr nach innen gekrümmt und endet weit vom Alveolusrande.

Recebido para publicação em 28/7/1964.

Bibliografia

1. *Walckenaer, C. A. — Tabl. des Aran.*, Paris, 1805.
2. *Perty, M. — Del. Anim.*, :197, 1833.
3. *Walckenaer, C. A. — Insect. Apt.*, :366, 1837.
4. *Keyserling, Graf E. — Bras. Spinn*, :1-278, 1891.
5. *Simon, E. — Hist. Nat. As.*, II, Paris, 1897.
6. *Cambridge, F. O. — An. Mag. Nat. Hist.*, 19-6, ser., 1897.
7. *Cambridge, F. O. — Ibidem*, 97 ser., 1902.
8. *Strand, E. — Jahrb. Nass. Ver. Naturk. Wiesbaden*, **61**:223-281, 1907/8.
9. *Brazil, V.* e *Vellard, J. — Mem. Inst. Butantan*, **3**:301-326, 1926.
10. *Koch, C. — Die Arachniden*, **16**:60, 1848.
11. *Mello-Leitão, C. de — Festschr. E. Strand*, **1**:16, 1936.
12. *Caporiaco, C. — Proc. zool. Soc. London*, **118**(30):681, 1948.
13. *Bücherl, W. — Mem. Inst. Butantan*, **25**(2):1-21, 1953.
14. *Bücherl, W. — A.A.A. Sci.*, **44**:95-98, 1953.
15. *Bücherl, W. — An. Acad. bras. Ci.*, **29**(3):377-416, 1956.
16. *Bücherl, W. — Arzneimittel-Forsch.*, **6**(5):293-297, 1956.

PRESERVATION OF BONE MARROW CELLS OF DOG WITH HEPARIN AND EDTA *

T. M. C. M. CAVENAGHI ** and G. ROSENFELD

Laboratory of Hematology, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

The extension of the experimental works on blood and bone marrow cell cultures in genetics, as well as in transplantation of the bone marrow has pointed out the problem of a better study about an eventual activity of anticoagulants on the viability of cells. Goerner (3) had reported that in the presence of 1% heparin, cells of carcinoma of Flexner-Jobling became not transplantable. Fisher (2) observed that even 0.05% heparin prevented the cellular division of fibroblasts and condrioblasts of chicken embryo, and according to Heilbrunn and Wilson (4) this same concentration inhibited the mitosis of eggs of Arbacis and Chaetopterus. In vivo, heparin was found by Lippman (7) to produce mitotic inhibition of cells of Ehrlich's ascitic tumor. In experiments with human bone marrow, Kurnick, Montano, Gerdes and Feder (6) verified that 5 unit concentrations, corresponding to 0.5 mg per ml of human bone marrow did not damage the cells, but this effect was produced by increased concentrations. Kreisler (5) reported that in transplantation of lymphosarcoma to mice, intravenous injections of heparin up to 15 units in intervals of 12 hours did not show any disadvantage, but this criterion can not be applied in confront to the others above mentioned.

On the other hand, some experiments with EDTA were also published, as those of McDonald and Kaufmann (9) in which ethylene-diamine tetracetate (EDTA) at the concentration level of 0.0004 to 0.002 M were found to cause mitotic changes in cells of the onion root. This fact was also observed by Davidson (1).

Soon after the experiments reported in this paper had been finished, Lochte, Ferrebee and Thomas (8) published results obtained through a comparative study between the action of heparin and EDTA on the DNA synthesis "in vitro" by bone marrow cells. They observed that concentrations of 0.025 to 1.0 mg of heparin/ml did not have an inhibiting activity, while 0.5 mg of EDTA/ml depressed

* This work was supported by a grant of the Research Fund of the Instituto Butantan (FPIB).

** Fellow of the National Council of Research (CNPq).

Received for publication in March, 7, 1963.

the DNA synthesis after 4 hours of incubation, but this did not occur before 3 hours. They also observed that the phenol sometimes added to heparin had an inhibitory effect when in quantities above 0.01 g%.

The purpose of this work was to compare heparin and EDTA as to their ability to preserve bone marrow cells when used as anticoagulants. This was accomplished through the number of cells found on several days to verify their resistance of survival.

Material and methods

Normal dogs were anesthetized with intra-peritoneal injections of 15 mg nembutal and 10 mg morphine chlorhydrate per kg of body weight. Aspiration of 0.5 ml bone marrow was made from different ribs using needles with a lumen of 10/10 mm and syringes already containing the anticoagulant. Glassware was coated with silicone.

Commercial heparin for therapeutical use was employed in 1% solutions containing 0.18% of methyl *p*-hydroxybenzoate and 0.02% of propyl *p*-hydroxybenzoate. It was observed that 0.1 ml was the minimum volume required to moisten the foremost part of a 20 ml syringe, this procedure was carried out because it is the most frequently used. As a consequence, the heparin quantity used was 2 mg per ml of marrow. As for EDTA, 0.05 ml of a 10% solution of the disodic salt was used in the syringe, in the same way, corresponding to 10 mg EDTA concentration per ml of marrow.

The resulting suspension of aspirated marrow containing either heparin or EDTA was distributed in two flasks, one being stored at +5°C and the other at —15°C. The cells were counted in a counting chamber and before drawing the marrow from the flasks, they were throughly shaken for 1 minute. The cell countings were carried out immediately after obtaining the marrow suspensions and at intervals of 24 hours for three days. Thereafter, flasks kept at —15°C were defrosted at room temperature every day for the three days.

For observations of the red blood cells, six dogs were used and the same number for the nucleated cells maintained at +5°C. Four dogs were utilized for counting of these cells in the bone marrow preserved at —15°C.

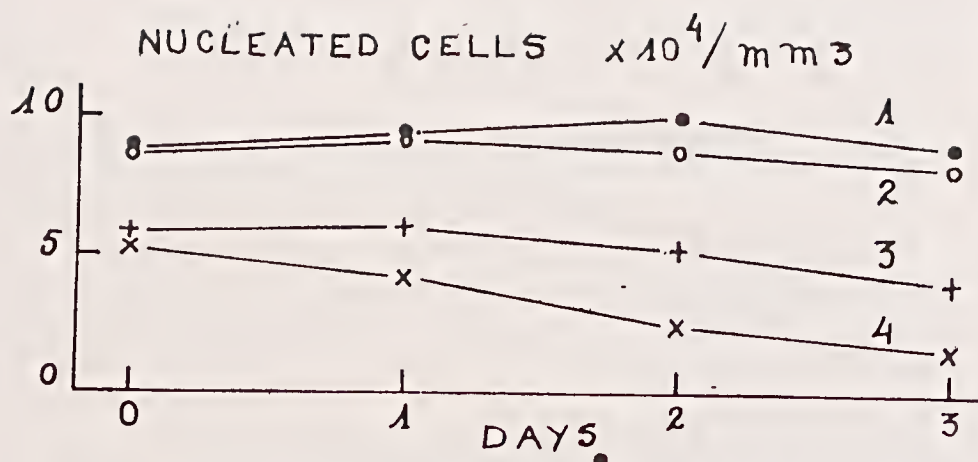
Results

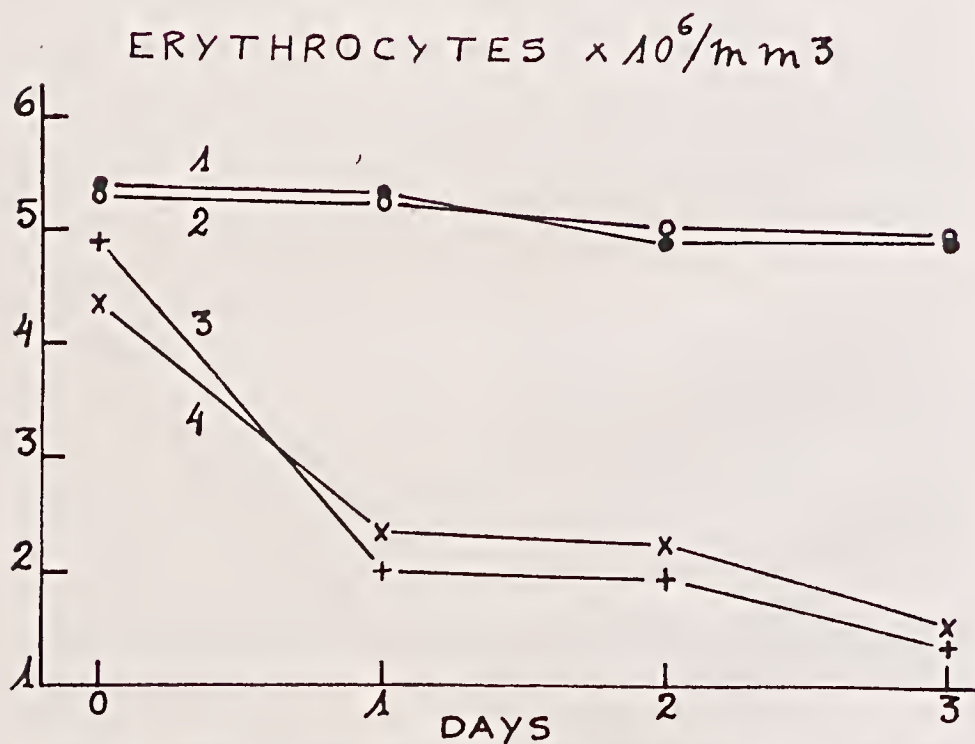
Bone marrow with heparin maintained at +5°C had a slightly increased number of nucleated cells after 24 hours, afterwards it decreased and finally, on the third day, it was very little below the initial number, but these modifications

TABLE 1 — NUMBER OF NUCLEATED CELLS × 10^3/mm³ IN BONE MARROW MAINTAINED AT +5°C

Heparin 2 mg/ml					EDTA 5 mg/ml				
Dog number	Days at +5°C				Dog number	Days at +15°C			
	0	1	2	3		0	1	2	3
12	1044	1262	958	1024	12	672	641	804	741
13	319	301	284	309	13	572	545	658	532
14	928	1034	956	889	14	854	1029	1074	939
15	1029	968	1088	984	15	827	878	1087	936
17	1247	1312	1320	1169	17	1660	1909	1797	1626
18	628	638	638	534	18	722	633	552	633
Mean	866	919	874	818	Mean	874	939	995	901

TABLE 2 — NUMBER OF NUCLEATED CELLS × 10^3/mm³ IN BONE MARROW MAINTAINED AT —15°C

Heparin 2 mg/ml					EDTA 5 mg/ml				
Dog number	Days at —15°C				Dog number	Days at —15°C			
	0	1	2	3		0	1	2	3
6	382	490	224	201	6	310	231	195	159
7	674	687	502	287	7	800	1114	889	506
10	567	114	48	44	10	519	490	555	401
11	465	353	165	123	11	680	534	461	520
Mean	522	411	235	164	Mean	577	592	525	396

Graph 1 — Number of nucleated cells on bone marrow maintained at +5ºC (mean numbers of 6 dogs) and −15ºC (mean numbers of 4 dogs).

Curve
1 — EDTA +5ºC
2 — Heparin +5ºC
3 — EDTA −15ºC
4 — Heparin −15ºC

Graph 2 — Number of red blood cells in bone marrow maintained at +5ºC and −15ºC. Mean numbers of 6 dogs each.

Curve
1 — EDTA +5ºC
2 — Heparin +5ºC
3 — EDTA −15ºC
4 — Heparin −15ºC

were found not to be significant (Table 1, graph 1, curve 2). With EDTA, the increase of nucleated cells went forward until 48 hours and then decrease took place on the third day, when the same quantity of cells was recorded as in the beginning (Table 1, graph 1, curve 1), but the changes observed were found to be statistically non-significant.

Bone marrow kept at $-15°C$ had a statistically significant decrease of nucleated cells, when mixed with heparin (Table 2, graph 1, curve 1), while the changes observed with EDTA were found to be statistically non-significant until the third day (Table 2, graph 1, curve 3).

As to the erythrocytes, their behavior was identical in regard to both anticoagulants. In the sample kept at $+5°C$, the number of cells diminished very little (Graph 2, curves 1 and 2), while in the frozen marrow there was a very marked decrease (Graph 2, curves 3 and 4).

Discussion

According to Rosenfeld (10) 1 mg/ml is the best concentration for EDTA to be used as anticoagulant when it is also able to preserve cells, as well as or better than heparin, and if heparin is used, the best concentration is 0.1 mg per ml of blood. In the experiments reported in this paper, greater quantities were used in order to maintain the commonly used conditions for preparing bone-marrow suspensions, such as syringe moistening with sterile solutions of anticoagulants, and also to give a better evidence on the unfavourable activity of these substances on cells.

As to the erythrocytes preservation, no difference between the two anticoagulants was observed. The rapid decrease of cell number in the frozen sample was obviously due to the successive thawing and freezing of samples. But in what nucleated cells are concerned, EDTA showed advantages in relation to heparin, not only because the increase of these cells went on for more time, indicating a smaller inhibition on their multiplication, but also because of a better protection in a period of three days.

It seems that EDTA can be used with advantages for replacing heparin as an anticoagulant, when bone-marrow may not be immediately used for purpose of cells culture or transplantation. The one thing necessary is to use measured quantities of any anticoagulant and not the syringe moistening, as it is usual, in order to avoid variations or excess of substances that could disturb preservation and viability of cells.

Summary

Dog bone marrow obtained by rib puncture was added to heparin in proportion of 2 mg/ml or to EDTA, 10 mg/ml. The samples were kept at +5°C or −15°C and the cell countings were made in 24 hours intervals up to the third day.

In marrow kept at +5°C, the number of nucleated cells seemed to increase slightly during the first day, decreasing afterwards in the course, on the last day, to values not far from the initial ones when heparin was used. With EDTA, the increase of cells continued up to 48 hours, descending on the third day to almost the same quantity, as that found in the beginning. In the frozen samples, there was a gradual decrease of the number of cells with heparin, while with EDTA there was still a slight addition in 24 hours and smaller decay on the third day, than with heparin. For erythrocyte preservation, there was no difference between heparin and EDTA.

The usual method of moistening the syringe with the anticoagulant result in the use of excess of substance that can be prejudicial, it is necessary to measure the volume of the anticoagulant solution.

Resumo

Medula óssea de cão obtida pela punção de costelas foi adicionada de heparina na proporção de 2 mg/ml ou de EDTA na proporção de 10 mg/ml. O material foi conservado em temperatura de +5°C ou −15°C e contagens de glóbulos foram feitas com intervalos de 24 horas até o terceiro dia.

Na medula conservada a +5°C, o número de células nucleadas aumentou ligeiramente no primeiro dia, descendo depois no último dia para valor próximo do inicial quando se usou heparina. Com o EDTA, o aumento das células continuou até 48 horas depois, descendo no terceiro dia para uma quantidade quase igual à inicial. No material congelado houve queda gradual do número de células com heparina, enquanto que, com o EDTA ainda houve ligeiro acréscimo nas 24 horas e queda menor do que com a heparina no terceiro dia. Para preservação de hemácias não houve diferença entre a heparina e o EDTA.

O EDTA apresentou algumas vantagens sôbre a heparina, permitindo uma melhor multiplicação das células e, preservando-as melhor quando congeladas.

O método usual de umedecer a seringa com o anticoagulante resulta do uso de quantidades excessivas que podem prejudicar. é necessário medir o volume da solução anticoagulante.

References

1. *Davidson, D.* — The Effects of Chelating Agents on the Cell Division. *Exper. Cell. Res.*, **14**:319, 1958.

2. *Fischer, A.* — Ueber die Wirkung des Heparins auf das Wachstum von Gewebezellen in Vitro. *Protoplasma*, **26**:344, 1936.

3. *Coerner, A.* — The Influence of Anticlotting Agents on Transplantation and Growth of Tumor Tissue. *J. Lab. Clin. Med.*, **16**:369, 1931.

4. *Heilbrunn, L. V.* and *Wilson, W. L.* — The Effect of Heparin on Cell Division. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **70**:179, 1949.

5. *Kreisler, L.* — Effect of Heparin on the Growth of a Transplantable Lymphosarcoma in Mice. *Science*, **115**:145, 1958.

6. *Kurnick, N. B.*, *Montano, A.*, *Gerdes, J. C.* and *Feder, B. H.* — Preliminary Observations on the Treatment of Post-irradiation Hematopoietic Depression in Man by the Infusion of Stored Autogenous Bone Marrow. *Ann. Int. Med.*, **49**:973, 1958.

7. *Lippman, M.* — The Growth Inhibitory Action of Heparin on the Ehrlich Ascites Tumor in Mice. *Cancer Res.*, **17**:11, 1957.

8. *Lochte, H. L. Jr.*, *Ferrebee, J. W.* and *Thomas, E. D.* — The Effect of Heparin and EDTA on DNA Synthesis by Marrow in vitro. *J. Lab. Clin. Med.*, **55**:432, 1960.

9. *McDonald, M. R.* and *Kaufmann, B. P.* — Production of Mitotic Abnormalities by Ethylenediaminetetraacetic Acid. *Exper. Cell. Res.*, **12**:415, 1957.

10. *Rosenfeld, G.* — Etilenediamina Tetraacética Disódica (EDTA) como Anticoagulante para Técnica Hematológica. *Rev. Clin. de São Paulo*, **31**:65, 1955.

Mem. Inst. Butantan,
31:111-114, 1964.

ATRICHOLAELAPS (ISCHNOLAELAPS) MARIOI, sp. n.

FLAVIO DA FONSECA (†)*

Secção de Parasitologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Em trabalho anterior tivemos oportunidade de apresentar o nosso ponto de vista a propósito dos gêneros *Haemolaelaps* Berlese, *Atricholaelaps* Ewing e *Ischnolaelaps* Fonseca, tendo opinado pela validade de todos, o primeiro como gênero monotípico e o último como subgênero do segundo.

Nesta oportunidade descrevemos um novo *Ischnolaelaps*, que segundo tôdas as probabilidades é parasita habitual de marsupial, o que é raro entre os *Mesostigmata* neotrópicos, sòmente encontrado similar no *Neoichoronyssus wernecki* Fonseca, parasita dos *Didelphys*. Talvez na Austrália, pátria dos marsupiais e de onde foi descrito o *Haemolaelaps marsupialis* Berlese, 1910, achado sôbre um *Pasameles* e agora encontrado por Womersley sôbre pássaro, se venha a verificar parasitismo em outros dêsses primitivos mamíferos, que por ora foram mal estudados sob o ponto de vista acarológico.

Dentre as espécies congenéricas e de gêneros afins, esta é fàcilmente caracterizável pela particularidade de apresentar os pêlos do escudo dorsal de dimensões exíguas.

Encontrada duas vêzes apenas, em ambas sôbre um pequeno didelfídeo carnívoro, uma "Cuíca", provàvelmente o seu hospedeiro natural. Êstes pequenos predadores se mostram freqüentemente infestados pelo *Acari* das suas vítimas ocasionais, que comumente são ratos; no caso vertente, porém, o parasitismo do roedor é menos provável, pois não só a espécie nunca foi encontrada sôbre animal dêsse grupo, como também em ambas as capturas se achava parasitando "Cuícas" provàvelmente de localidades separadas por milhares de quilômetros. Além disso, a espécie difere muito dos parasitos de roedores devido ao tarso I curto e às cerdas minúsculas do escudo dorsal, fazendo crer tratar-se de espécie adaptada a marsupiais.

Descrição da fêmea

É de dimensões médias, regularmente quitinizada e de patas finas, sòmente o segundo par ligeiramente alongado.

---

* Publicação póstuma, não revista pelo autor.

Recebido para publicação em julho de 1963.

Idiosoma

O holótipo tem idiossoma quase perfeitamente elítico, medindo 884 micra de comprimento por 625 micra de maior largura, sendo a extremidade perfeitamente arredondada, sem a projeção habitual.

Face ventral — O bordo anterior da placa esternal é indistinguível da pré-esternal que se lhe segue e que atinge a base, do tritoesterno, sendo deduzida a sua posição pela das cerdas anteriores da placa. O bordo posterior da esternal não apresenta concavidade, tendo limites pouco nítidos; a superfície é reticulada e os *pori repugnatori* são muito finos. Cerdas anteriores com 62 micra, cerdas médias com 78 micra e cerdas posteriores com 83 micra. A placa mede 156 micra de comprimento na linha média e 161 micra de maior largura à frente das cerdas médias. O tritoesterno é piloso desde a bifurcação. As cerdas metaesternais têm 50 micra. A placa genital mede 202 micra da base da cerda genital ao meio do bordo posterior e 156 micra de maior largura, tendo a cerda genital 77 micra. A placa anal dista 41 micra do bordo posterior da gênito-ventral, tendo um bordo anterior quase reto e o ânus afastado dêsse bordo por uma distância igual ao seu comprimento, apesar dêle ser alongado com 37 micra. As cerdas pares da anal ficam implantadas pouco para trás do nível do meio do ânus e medem 47 micra. A cerda ímpar mede 72 micra. Cêrca de seis cerdas internas e seis próximas dos bordos, além dos três pares habituais próximos da placa genital, ocorrem na área descoberta da face ventral, sendo as anteriores bem mais curtas do que é habitual.

Face dorsal — O escudo dorsal, com 858 micra × 550 micra, apenas deixa descoberta estreita margem lateral e a área posterior um pouco mais larga. A superfície não apresenta auréolas. Das cerdas sòmente as verticais anteriores e a submediana marginal posterior são normalmente longas, tendo tôdas as outras dimensões exíguas. A última mede 68 micra e a primeira 42 micra. A maior cerda depois destas é a que se segue à submediana marginal posterior, na margem do escudo, a qual tem 21 micra. As menores cerdas vistas no escudo tinham cêrca de 10 micra. Duas marcas circulares arredondadas estão localizadas na união do têrço posterior com os dois têrços anteriores do escudo.

Patas

As patas são finas, sòmente a pata II sendo ligeiramente alargada. As cerdas das coxas são finas como nas restantes espécies do gênero. Na quetotaxia das patas, apenas chama a atenção o aspecto da cerda anterior dos trocanteres, que é espiniforme forte no trocanter I, chegando a parecer verdadeiro espinho nos restantes. O tarso I, com seu pretarso, mede 156 micra e o da pata IV mede 182 micra.

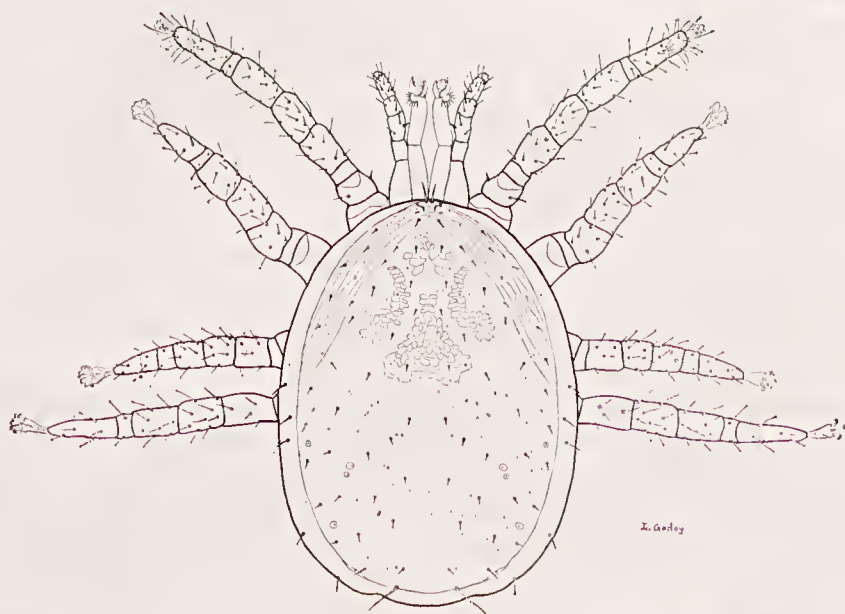



Fig. 1 — *Atriocholaelaps (Ischnolaelaps) marioi*, sp. n. Face dorsal.

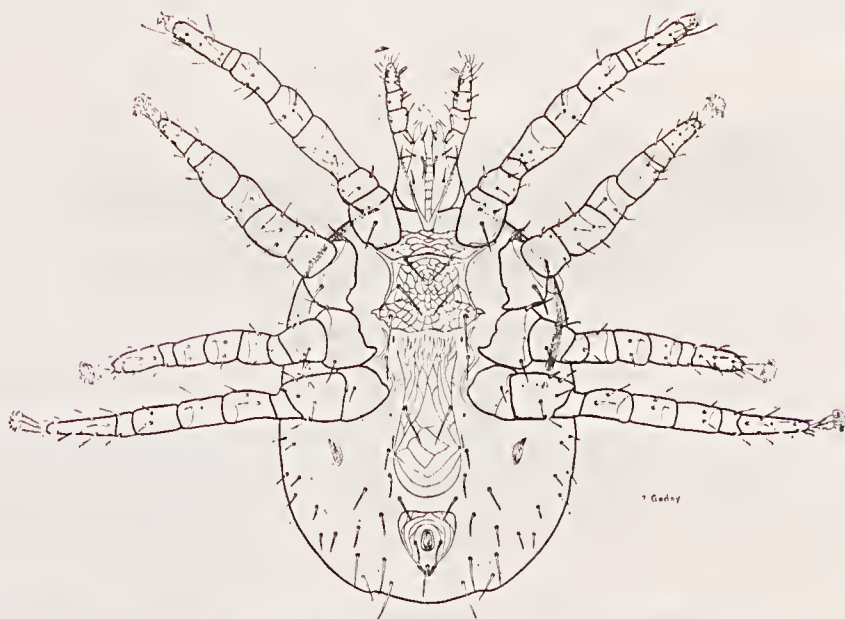



Fig. 2 — *Atriocholaelaps (Ischnolaelaps) marioi*, sp. n. Face ventral.

Gnatossoma

Maxilicoxas relativamente curtas com a cerda média interna mais longa e *corniculi* pouco quitinizado. Mandíbulas normais com *pilus dentilis* estreito no ponto de emergência e logo depois muito dilatado, encurvando-se e afilando-se no ápice.

Holótipo N.º 2039, proveniente de Biriguí, São Paulo, capturado em 20/IV/1953 sôbre um didelfídeo, "Cuíca", N.º 6397 do registro de hospedeiros do Instituto Butantan.

Metátipo N.º 4786, capturado também sôbre um didelfídeo, "Cuíca", provàvelmente do Estado do Pará, onde foi capturado a 15/IX/1936, tendo sido trazido pelo Dr. Evandro Chagas, que o entregou ao Dr. H. Aragão, pelo qual foi oferecido ao autor a 29/IV/1950.

A espécie é dedicada ao meu Auxiliar Técnico e amigo Mário Valentini Nogueira, o qual, com desvêlo e competência, vem trabalhando desde muitos anos na montagem de material e na organização da coleção de acarianos.

Resumo

Atricholaelaps (*Ischnolaelaps*) *marioi*, sp. n., foi encontrada duas vêzes em pequenos marsupiais não identificados, "Cuícas", de Biriguí, São Paulo e provàvelmente do Estado do Pará, respectivamente. A espécie é reconhecida fàcilmente pelos pêlos curtos do escudo dorsal e pelo tarso I mais curto de 156 micra. Holótipo N.º 2039 de Biriguí.

Summary

Atricholaelaps (*Ischnolaelaps*) *marioi*, sp. n., was found twice on small, unidentified marsupials, "Cuícas", respectively from Biriguí, São Paulo, and probably from the State of Pará, Brazil. The species is easily recognized by the very short hairs of the dorsal shield and by the shortened tarsus, 156 micra long. Holotype No. 2039 from Biriguí.

Bibliografia

1. *Fonseca, F. da* — Notes d'Acarologie. XLI. *Haemolaelaps Berlese* versus *Atricholaelaps* Ewing et *Ischnolaelaps* Fonseca; *Ornithonyssus* Sambon versus *Bdellonyssus* Fonseca. *Mem. Inst. Butantan*, 28:45-54, 1957/1958.

ESTUDOS SÔBRE ARANHAS DA FAMÍLIA *LYCOSIDAE*

2. SÔBRE O COLORIDO DE ALGUMAS ESPÉCIES DA SUB-FAMÍLIA *LYCOSINAE*

SYLVIA LUCAS

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Introdução

As descrições de várias espécies antigas baseiam-se, geralmente, em apenas um único exemplar adulto, um macho ou uma fêmea, quando não se trata de exemplares jovens. Dêste modo não puderam ser levadas em conta as variações individuais, nem as variações devidas à idade e ao sexo. Pela conservação em álcool os exemplares sofrem descoloração mais ou menos intensa, apresentando um aspecto, muitas vêzes, bastante diferente daquele da aranha viva. Êstes fatôres contribuem para que as descrições originais nem sempre correspondam exatamente ao exemplar em estudo.

Procuramos, neste trabalho, comparar as descrições originais com exemplares vivos e também com aranhas conservadas da coleção do Instituto Butantan, a fim de observar as variações surgidas. Não nos preocupamos com a sistemática das espécies estudadas e assim conservamos seus nomes antigos.

Material e métodos

As espécies estudadas foram as seguintes:

1 — *Lycosa erythrognatha* Lucas 1836

2 — *Tarentula nychtemera* Bertkau 1880

3 — *Tarentula auroguttata* Keyserling 1891

4 — *Lycosa nordenskiöldii* Tullgren 1905

5 — *Tarentula sternalis* Bertkau 1880

6 — *Tarentula ornata* Perty 1833

Recebido para publicação em 24/7/1962.

Observamos sempre que possível machos e fêmeas, além de exemplares jovens, sob a lupa, a sêco e imersas em álcool.

São mantidas vivas no laboratório:

Lycosa erythrognatha — diversos exemplares, tanto machos como fêmeas.

Tarentula sternalis — um macho adulto.

Tarentula auroguttata — uma fêmea adulta.

Descrição do colorido

Lycosa erythrognatha Lucas 1836 (Fig. 1-*a*-7)

Os exemplares da coleção procedem de São Paulo (tanto da capital como do interior); Rio Grande do Sul (Santa Cruz e Pôrto Alegre); Paraná (Curitiba e Barigüi) e do Rio de Janeiro.

O colorido e o desenho de *Lycosa erythrognatha* não diferem da descrição original de Lucas (2), que teve à sua disposição tanto machos como fêmeas adultos. Infelizmente, Lucas (2) não mostra na sua descrição um desenho do epígino, mas assim mesmo não há dúvida quanto ao reconhecimento da espécie.

Lucas (2) não descreveu o colorido do dorso do abdomen em detalhe. Pelo desenho que acompanha a descrição original, o dorso do abdomen do macho apresenta uma faixa em forma de ponta de lança no têrço anterior e, de cada lado, basalmente, uma grande mancha escura. Quanto às fêmeas nada pôde afirmar com certeza, por não possuir exemplares cujo abdomen estivesse em bom estado de conservação.

Nos exemplares que tivemos à disposição observamos:

O dorso do abdomen é amarelo-cinzento escuro com uma faixa lanceolada no têrço basal. Contornando esta, há de cada lado, uma faixa formada por pêlos claros, muito larga nos machos e atingindo a região posterior do abdomen (Fig. 1-*d*) e mais estreita nas fêmeas e geralmente restringindo-se apenas ao têrço anterior (Fig. 1*b*). Nos machos, os pêlos que formam essas faixas claras são quase brancos e nas fêmeas amarelos mais escuros. Externamente, à "ponta de lança" há as duas manchas negras também observadas por Lucas. Após o desenho do têrço anterior há um triângulo denegrido cujos vértices posteriores abrem-se em arco, seguido de 4 ou 5 linhas transversais negras.

Pela conservação em álcool, as aranhas sofrem descoloração. O cefalotórax, apesar de ainda mostrar as faixas claras contrastando com a côr de fundo, mais escura, torna-se bem mais claro, marrom avermelhado e os pêlos brancos que

formavam as linhas radiantes, tendem a cair. Em aranhas vivas observa-se um contraste em relação às estrias radiantes, que são mais claras e bem mais nítidas nos machos (Fig. 1-*a*, 1-*c*).

O ventre é superficialmente negro, o que concorda com a descrição de Lucas, mas pela observação mais detalhada descobrem-se quatro fileiras longitudinais de minúsculos pontos claros (Fig. 1-*c*). Êstes constituem pigmentação da própria epiderme.

Tarentula nychtemera Bertkau 1880 (Fig. 2-*a*-*d*)

Tivemos à disposição apenas dois exemplares capturados nos arredores do Instituto Butantan. Trata-se de duas fêmeas, sendo uma adulta e outra com epígino em desenvolvimento.

Foram colocadas sob êste nome devido ao colorido e principalmente devido ao aspecto do epígino, que concorda exatamente com o desenho feito por Bertkau.

O colorido do ventre (Fig. 2-*b*), cefalotórax (Fig. 2-*c*) e esterno (Fig. 2-*d*) é idêntico ao da fêmea descrita por Bertkau (1), como tipo. Esta descrição, porém, confunde-se com aquela de Lucas (2), feita para *Lycosa erythrognatha*. Os dois exemplares da coleção distinguem-se, porém, perfeitamente de *Lycosa erythrognatha* através do colorido do dorso do abdomen. Êste é manchado de amarelo e de escuro, apresentando o desenho normal em forma de ponta de lança, seguido de duas fileiras de pontos brancos (Fig. 2-*a*). Os flancos igualmente, também são manchados. Em *Lycosa erythrognatha*, sem dúvida, há algumas manchas negras, porém, muito menores e menos abundantes. Os flancos são pràticamente de côr amarelo-cinzento uniforme, levemente alaranjados próximo às fiandeiras.

Lucas (2), ao descrever *Lycosa erythrognatha*, não cita manchas negras no dorso e Bertkau não dá maiores detalhes sôbre elas. Distinguimos, portanto, essas duas espécies pelo colorido do dorso do abdomen e pelo epígino. Comparar Figs. 1 e 11.

Tarentula auroguttata Keyserling 1891 (Fig. 3-*a*-*d*)

As aranhas desta espécie existentes em nossa coleção procedem das seguintes localidades: São Paulo (Butantan, Caucaia do Alto, etc.); Rio Grande do Sul (Pôrto Alegre); Paraná (Palmeiras); Minas Gerais (Pedra Corrida).

O tipo descrito por Keyserling é uma fêmea jovem de Rio Grande, Rio Grande do Sul, cujo colorido, porém, não difere dos exemplares adultos observados. Esta espécie apresenta um colorido muito característico, que torna fácil seu reconhecimento. A aranha é escura, quase negra. O cefalotórax, castanho escuro,

apresenta nas margens laterais pêlos claros, amarelos, em duas faixas estreitas, que vão se alargando à medida que se aproxima da região posterior (Fig. 3-*a*).

Na fêmea mantida viva no laboratório, a faixa mediana de pêlos claros não percorre o cefalotórax em tôda a sua extensão, mas restringe-se ao quadrângulo formado pelos quatro olhos posteriores. As fêmeas conservadas em álcool apresentam-na por inteira. Quanto aos machos, não pudemos examinar nenhum vivo. Todos os conservados apresentam no cefalotórax três faixas claras, largas. Um macho, fixado logo após a ecdise, apresenta o cefalotórax bem mais claro que os demais, com três faixas amarelas muito largas, ocupando quase tôda sua largura.

O esterno (Fig. 3-*b*) e as coxas de todos os exemplares observados, apresentam a mesma coloração do cefalotórax, isto é, pràticamente negra. Pela conservação em álcool podem sofrer descoloração, ficando manchados de amarelo, sob fundo marrom avermelhado. Estas modificações podem surgir após curto tempo de conservação. As quelíceras e os palpos acham-se cobertos de pêlos avermelhados; da mesma côr são os que contornam os olhos da primeira e da segunda fileira. Devido à ação do álcool podem tornar-se de côr menos viva, ou seja, amarelados. O abdomen (Fig. 3-*c*), tanto em machos como em fêmeas, apresenta no dorso a faixa normal, em forma de ponta de lança, delimitada dos lados por uma faixa irregular de pêlos amarelos. Nos machos, estas são bem mais nítidas que nas fêmeas e mais largas. Seguem-se em ambos os sexos, linhas escuras em arco, que terminam com uma mancha amarela de cada lado. Assim, à primeira, vista, o dorso do abdomen é negro com pares de manchas amarelo-douradas percorrendo-o longitudinalmente. Ventre (Fig. 3-*d*) e flancos, como os descreveu Keyserling, são salpicados de pontos amarelo-dourados. Logo após o sulco epigástrico há duas fileiras de pontos amarelos grandes, que não atingem as fiandeiras. Seguem-se dos lados outras fileiras formadas por pontos menores. Tôda a região à frente do sulco epigástrico é castanho escura, sendo os pulmões mais claros.

Pela conservação em álcool o ventre pode tornar-se mais claro. Porém, o seu desenho típico não desaparece. Sempre é possível reconhecer-se esta espécie devido ao ventre pintado de manchas amarelo-ouro, que lhe deu o nome de *Tarentula auroguttata*.

Lycosa nordenskiöldii Tullgren 1905 (Fig. 4-*a*-*f*)

Tullgren baseou sua descrição em exemplares da Bolívia. Esta espécie é também relativamente freqüente no Brasil e na coleção temos exemplares de São Paulo (Itapetininga, Ubatuba, Barirí); Minas Gerais (Belo Horizonte). Nesta espécie ocorre notável dimorfismo sexual. O colorido dos exemplares observados concorda de modo geral com a descrição de Tullgren, apesar de havermos notado ligeiras variações. O esterno (Fig. 4-*a*) nas fêmeas é castanho escuro, uniforme, coberto de pêlos negros muito densos. Nos machos (Fig. 4-*b*) é amarelo-claro, coberto

de pêlos negros escassos, que deixam transparecer o fundo claro. Pode apresentar uma faixa negra, longitudinal mediana, como observou Tullgren, mas também há machos cujo esterno é amarelo uniforme ou com apenas algumas manchas denegridas de distribuição irregular. As coxas, tanto nas fêmeas como nos machos, são da mesma côr do esterno. O dorso do abdomen apresenta a faixa em forma de ponta de lança, que pràticamente não se distingue do colorido geral. Seguem-se linhas em arco, que terminam de cada lado em pontos brancos sob fundo escuro (Fig. 4-*c*). O ventre apresenta nas fêmeas (Fig. 4-*d*) uma grande mancha negra, que não atinge as fiandeiras. Os flancos são amarelos. Ao redor da mancha negra do ventre há também alguns pontos negros. Na frente do sulco epigástrico há pêlos negros pouco densos, que deixam transparecer um fundo claro.

Os machos (Fig. 4-*e*) também possuem uma mancha negra no ventre, porém, esta pode ser extremamente reduzida, e às vêzes, apresenta-se sob forma de uma faixa negra mediana. Os flancos são de côr amarela, mais pálida que nas fêmeas. Não há as pontuações negras ao redor da mancha no ventre.

Nos exemplares conservados em álcool surgem algumas modificações. As fêmeas conservam a mancha negra no ventre, mas nos machos esta pode tornar-se tão clara que chega pràticamente a desaparecer. No dorso, tanto nas fêmeas como nos machos os pontos brancos desaparecem devido à queda dos pêlos e em seu lugar surgem as manchas escuras do fundo.

Tarentula sternalis Bertkau 1880 (Fig. 5-*a-d*)

Lycosa sericovittata Mello Leitão 1939 (3)

Os exemplares observados desta espécie são do Paraná (Barigüi) e São Paulo (diversas localidades, tratando-se de uma espécie relativamente comum). Além disso, o tipo descrito por Mello Leitão como *Lycosa sericovittata* está guardado na coleção do Instituto Butantan, procedente de Pedra Corrida, Minas Gerais.

Bertkau (4) descreve apenas uma única fêmea de São João d'El Rei ou de Teresópolis.

Nos exemplares examinados, notamos algumas diferenças quanto ao colorido.

Assim Bertkau (4) descreve o esterno como sendo marrom-avermelhado escuro com estreitas faixas marginais claras. A maioria dos exemplares, porém, possui o esterno marrom-avermelhado, percorrido longitudinalmente por uma faixa mediana marrom escura. Esta, de modo geral, ocupa cêrca de um têrço da largura, mas há casos em que é tão larga que deixa livre apenas duas estreitas margens claras (Fig. 5-*b*). O ventre corresponde à descrição de Bertkau. Os machos não mostram diferenças em relação às fêmeas. As duas linhas escuras, medianas, também podem fundir-se numa única (Fig. 5-*d*). O dorso apresenta

uma larga faixa de pêlos claros que o percorre em tôda sua extensão. Dentro desta faixa há o desenho em forma de ponta de lança, seguido de linhas em arco. Devido aos pêlos claros êste desenho nem sempre é muito vísivel. Em geral, observa-se apenas uma mancha escura, que corresponde ao ápice da "ponta de lança" e duas manchas que correspondem à base. Das linhas em arco pode ver-se, geralmente, apenas a região central ou uma leve sombra. Quando as aranhas estão conservadas há algum tempo, os pêlos claros caem parcialmente e o desenho surge mais nítido. Também as manchas negras na bainha da faixa clara, descritas por Bertkau (4), apresentam-se mais visíveis então (Fig. 5-*e*).

Esta espécie não apresenta, quanto ao colorido, acentuado dimorfismo sexual.

Apresenta semelhanças com *Tarentula ornata* Perty, porém, distingue-se pelo colorido do cefalotórax e dorso do abdomen. Enquanto que em *Tarentula sternalis* as faixas claras no cefalotórax são marginais (vide Fig. *a*), em *Tarentula ornata* são submarginais. Comparar com as Figs. 5 e 6.

Tarentula ornata Perty 1833 (Fig. 6-*a*-*d*)

Na coleção temos exemplares do litoral de São Paulo (São Sebastião, Ilha Bela), além de exemplares dos arredores do Butantan. A descrição de Perty é muito resumida, causando dificuldades quanto ao reconhecimento da espécie. As aranhas estudadas foram colocadas sob êste nome devido ao colorido, principalmente do cefalotórax. O cefalotórax das fêmeas é castanho escuro, apresentando três faixas claras, uma mediana e duas laterais submarginais (Fig. 6-*a*). O esterno é amarelo-claro e apresenta uma faixa longitudinal, mediana, negra, mais larga na frente e terminando em ponta atrás (Fig. 6-*b*). As coxas são de côr amarela como o esterno. Os demais artículos são manchados de amarelo e castanho escuro. O dorso do abdomen apresenta a faixa lanceolada e, de cada lado, uma faixa de pêlos amarelados, pouco visível. Seguem-se linhas em arco (Fig. 6-*c*). O ventre é amarelado-marrom. Logo após o sulco epigástrico há duas linhas escuras, levemente convergentes, que terminam à frente das fiandeiras. Podem fundir-se numa única faixa mediana. Contornando o ventre há uma faixa formada por pontos negros, irregulares. Os flancos são manchados.

Em fêmeas jovens o esterno e as coxas apresentam pontuações negras. Além disso, há no esterno a faixa longitudinal, também negra. A faixa lanceolada do abdomen não é inteiramente escura, mas apenas nos seus bordos. De cada lado há uma faixa larga de pêlos amarelos. Estas tornam-se menos nítidas à medida que se aproximam da região posterior. O ventre apresenta pontuações negras e o contôrno é formado por faixa idêntica à existente nos adultos. Quanto aos machos, tivemos apenas exemplares jovens à disposição. Êstes apresentam colorido igual ao das fêmeas jovens.

Fig. 1 — *Lycosa erythrognatha*

a) cefalotórax da fêmea
b) dorso do abdomen da fêmea
c) cefalotórax do macho
d) dorso do abdomen do macho
e) ventre da fêmea
f) esterno da fêmea

Fig. 2 — *Tarentula nychtemera*

a) dorso do abdomen da fêmea
b) ventre da fêmea
c) cefalotórax da fêmea
d) esterno da fêmea

Fig. 3 — *Tarentula auroguttata*

a) cefalotórax da fêmea
b) esterno da fêmea
c) dorso do abdomen da fêmea
d) ventre da fêmea

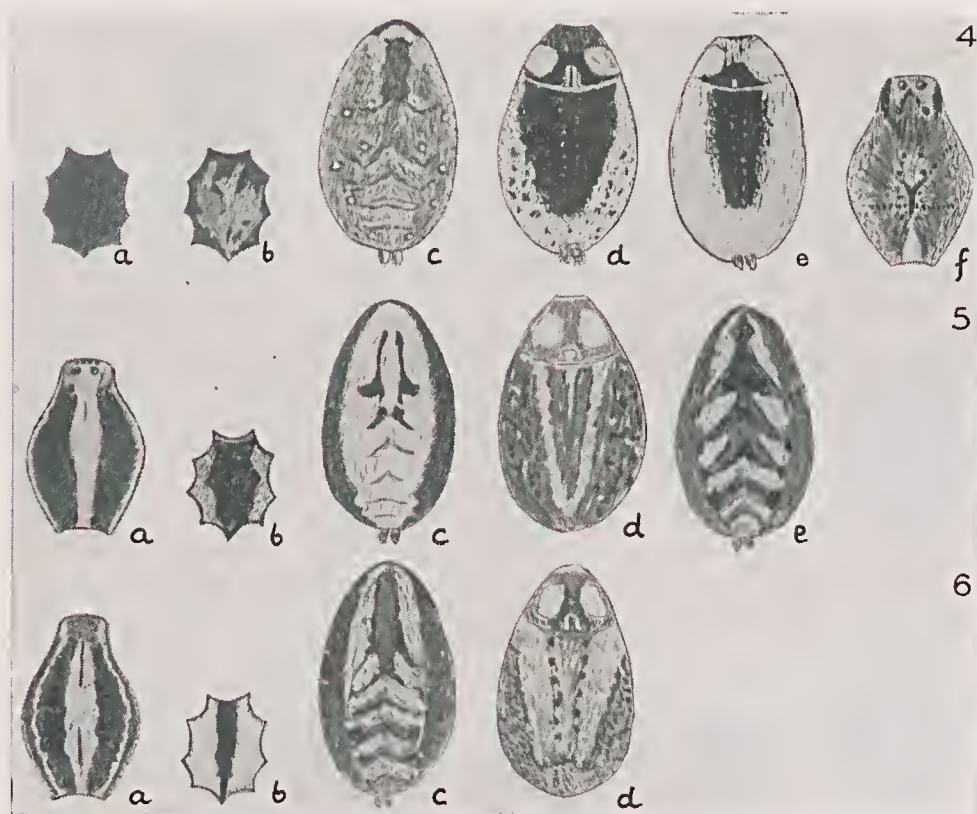



Fig. 4 — *Lycosa nordenskiöldii*

a) esterno da fêmea
b) esterno do macho
c) dorso do abdomen da fêmea
d) ventre da fêmea
e) ventre do macho
f) cefalotórax da fêmea

Fig. 5 — *Tarentula sternalis*

a) cefalotórax da fêmea
b) esterno da fêmea
c) dorso do abdomen da fêmea
d) ventre da fêmea
e) dorso do abdomen de fêmea após conservação em álcool

Fig. 6 — *Tarentula ornata*

a) cefalotórax da fêmea
b) esterno da fêmea
c) dorso do abdomen da fêmea
d) ventre da fêmea

Pela conservação em álcool, as aranhas sofrem descoloração. O cefalotórax torna-se de colorido geral marrom avermelhado claro, portanto, as faixas tornam-se menos contrastantes. A faixa negra no esterno torna-se muito clara e quase que desaparece totalmente. O dorso do abdomen torna-se de colorido uniforme e do desenho sòmente resta a faixa lanceolada, principalmente o contôrno e uma sombra das linhas em arco. No ventre o desenho pode desaparecer totalmente.

Discussão

Lycosa erythrognatha e *Tarentula nychtemera* apresentam colorido muito semelhante. Distinguem-se, porém, pelas fileiras de manchas brancas, grandes e nítidas em *Tarentula nychtemera*, e pelos flancos muito manchados. Em *Lycosa erythrognatha*, os flancos são de côr pràticamente uniforme com algumas pequenas pontuações negras, escassas.

Tarentula sternalis e *Tarentula ornata* também apresentam semelhanças, mas distinguem-se muito bem pelo colorido do cefalotórax, que apresenta faixas marginais, claras em *Tarentula sternalis* e submarginais em *Tarentula ornata*.

Lycosa nordenskiöldii e *Tarentula auroguttata* distinguem-se já à primeira vista das demais espécies.

Dentro de uma mesma espécie podem surgir pequenas variações individuais, que porém, não causam dificuldades para o reconhecimento da espécie. As variações de colorido observadas dentro de um mesmo lote devem-se, sem dúvida, ao fato da existência de aranhas de diversas idades.

Os exemplares jovens podem apresentar colorido um pouco diferente dos adultos; os machos podem apresentar colorido um pouco diferente das fêmeas. Geralmente, os machos possuem colorido mais intenso e mais nítido do que as fêmeas.

O colorido sempre deve ser observado quanto ao aspecto geral e as ligeiras variações devem ser desprezadas.

Baseado no colorido, é possível estabelecer-se a seguinte chave sinóptica das espécies:

1 { Ventre: totalmente negro, inclusive as fiandeiras; ou com uma grande mancha negra que não atinge as fiandeiras, ou com fileiras de pontos amarelo-ouro ... 2
Ventre: claro com linhas convergentes escuras ... 5

2 { Ventre totalmente negro, com fileiras de minúsculas pontuações claras, esterno negro, cefalotórax com faixa mediana e linhas radiantes claras, mais nítidas nos machos ... 2
Ventre com mancha negra e com fileiras muito nítidas de manchas amarelo-ouro; ou mancha negra reduzida à área central ... 4

3 — Dorso do abdomen com a faixa lanceolada normal seguida de pares de manchas brancas, paramedianas, dorso e flancos inteiramente manchados de amarelo e negro .... *Tarentula nyctemera Bertkau*

3 — Dorso do abdomen sem estas faixas paramedianas, porém, com a faixa em forma de ponta de lança, dorso e flancos de côr amarelo-cinzenta, uniforme. .... *Lycosa erythrognatha Lucas*

4 — Ventre negro com duas fileiras longitudinais paramedianas e várias colaterais de manchas amarelo-ouro, cefalotórax escuro, quase negro, marginado de cada lado por uma orla de pêlos amarelos, esterno negro. .... *Tarentula auroguttata Keyserling*

4 — Ventre com a mancha negra reduzida à área central e menor ainda nos machos, flancos amarelo-claros, cefalotórax claro com linhas pontuadas escuras, dorso do abdomen claro com o desenho em ponta de lança muito pouco visivel, esterno negro nas fêmeas e manchado de claro nos machos. .... *Lycosa nordenskiöldii Tullgren*

5 — Cefalotórax com duas faixas claras marginais, esterno marrom-avermelhado com faixa longitudinal escura, dorso do abdomen com larga faixa de pêlos claros. .... *Tarentula sternalis Bertkau*

5 — Cefalotórax com duas faixas claras submarginais, esterno amarelo com faixa mediana, longitudinal escura, dorso do abdomen sem a faixa larga de pêlos claros .... *Tarentula ornata Perty 1833*

Agradecemos ao Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan pelo auxílio financeiro, ao Dr. Wolfgang Bücherl pela orientação para a realização dêste trabalho e ao Sr. Laureano Dourado pelo auxílio técnico.

Resumo

1) É descrito o colorido de seis espécies de aranhas, a saber:

Lycosa erythrognatha Lucas 1836
Tarentula nychtemera Bertkau 1880
Tarentula auroguttata Keyserling 1891
Lycosa nordenskiöldii Tullgren 1905
Tarentula sternalis Bertkau 1880
Tarentula ornata Perty 1833

2) *Tarentula nychtemera* e *Lycosa erythrognatha* são espécies semelhantes, mas distinguem-se pelo colorido do dorso do abdomen. Também *Tarentula ornata* e *Tarentula sternalis* apresentam semelhanças, mas distinguem-se bem pelo colorido do cefalotórax.

3) Baseada no colorido, é elaborada uma chave sinóptica das 5 espécies observadas.

Summary

1) The color pattern of the following six species of spiders is described:

Lycosa erythrognatha Lucas 1836

Tarentula nychtemera Bertkau 1880

Tarentula auroguttata Keyserling 1891

Lycosa nordenskiöldii Tullgren 1905

Tarentula sternalis Bertkau 1880

Tarentula ornata Perty 1833

2) *Tarentula nychtemera* and *Lycosa erythrognatha* are similar species. However, the color pattern of their dorsum and abdomen is different. *Tarentula ornata* and *Tarentula sternalis* also resemble, but they distinguish themselves by the color pattern of the cephalothorax.

3) Based on this color pattern, the sypnotip key of the five species observed, is elaborated.

Bibliografia

1. *Bertkau* — 1880 *Tarentula nychtemera. Mem. Class. Sci.*, 43, p. 68 T 2 F 21.
2. *Lucas* — 1836 *Lycosa erythrognatha. Mag. Zool. Cl.* 5, p. 522.
3. *Mello-Leitão* — 1939 *Lycosa sericovittata. Mem. Inst. Butantan*, 12, p. 525 T F 56.
4. *Bertkau* — 1880 *Tarentula sternalis. Mem. Class. Sci.*, 43, p. 73 T 2 T 24.

SÔBRE A POSIÇÃO SISTEMÁTICA DE ALGUMAS ESPÉCIES DE ARANHAS VERDADEIRAS DO GÊNERO *CUPIENNIUS*, SIMON 1891, DA FAMÍLIA *CTENIDAE*, EM RELAÇÃO AO GÊNERO *ANCYLOMETES*, BERTKAU 1880, DA FAMÍLIA *PISAURIDAE* *

SYLVIA LUCAS

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Introdução

O gênero *Ancylometes*, Bertkau 1880, incluído pelo autor entre a família LYCOSIDAE, reune as espécies cuja fórmula ocular lembra as CTENIDAE (2-4-2), mas que apresentam uma terceira garra nos tarsos.

Bertkau (1) dá grande importância a esta terceira garra e afirma mesmo que tôdas as CTENIDAE que a apresentam devem ser incluídas entre as LYCOSIDAE.

Porém o gênero *Cupiennius*, Simon 1891 com fórmula ocular 2-4-2 também apresenta três garras nos tarsos. Simon (2) diz que êste gênero distingue-se de *Ctenus* pela plântula tarsal que apresenta uma pequena e aguda unha. Esta, porém, não é análoga àquela garra independente das PISAURIDAE, onde atualmente está incluído o gênero *Ancylometes*.

Portanto êste caráter deve ser usado com cuidado e sem dúvida a distinção dos dois gêneros através dêle traz grandes dificuldades, ocasionando algumas confusões.

Procuramos, neste trabalho, revendo as aranhas da coleção do Instituto Butantan e comparando as descrições originais, encontrar um outro caráter que possibilitasse uma distinção mais fácil entre os dois gêneros, tão semelhantes.

Na América do Sul foram descritas as seguintes cinco espécies de *Cupiennius*:

1 — *Cupiennius argentinus* (Holmberg) 1881
Argentina — Rio Capitan — 1 fêmea

2 — *Cupiennius celerrimus*, Simon 1891
Brasil — Tefé — 1 fêmea e 1 macho

---

* Trabalho realizado sob a orientação do Dr. Wolfgang Bücherl e sob os auspícios do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.

Recebido para publicação em 6/2/1963.

3 — *Cupiennius diplocellatus*, Mello Leitão 1936
Brasil — Terrenos — 1 fêmea

4 — *Cupiennius exterritorialis*, Strand 1909
América do Sul — 1 macho

5 — *Cupiennius granadensis* (Keyserling) 1876
Colômbia — Santa Fé de Bogotá — 1 fêmea e 1 macho

De *Ancylometes* foram descritas 17 espécies para a América do Sul:

1 — *Ancylometes amazonicus*, Simon 1898
Amazonas — 1 macho

2 — *Ancylometes bahiensis* (Strand) 1909
Brasil — Bahia — 1 fêmea

3 — *Ancylometes bogotensis* (Keyserling) 1876
Brasil — Bolívia — Colômbia — Panamá — Costa Rica — 1 fêmea e 1 macho

4 — *Ancylometes bolivianus*, Tullgren 1905
Bolívia — 1 fêmea

5 — *Ancylometes caracassensis* (Strand) 1909
Venezuela — 1 macho jovem

6 — *Ancylometes demerarensis* (F. Cambridge) 1897
Brasil — Demerara — 1 macho

7 — *Ancylometes gigas* (F. Cambridge) 1897
Amazonas — 1 macho

8 — *Ancylometes hewitsoni* (F. Cambridge) 1897
Brasil — Largo — 1 macho e 1 fêmea

9 — *Ancylometes orinocensis*, Simon 1898
Venezuela — 1 macho

10 — *Ancylometes palustris* (F. Cambridge)
Ilha da Trindade — 2 machos

11 — *Ancylometes paraensis* (Strand) 1915
Brasil — 1 fêmea

12 — *Ancylometes paraguayensis* (Strand) 1909
Paraguai — 1 macho

13 — *Ancylometes pindareensis*, Mello Leitão 1920
Brasil — 1 fêmea

14 — *Ancylometes saraensis* (Strand) 1909
Bolívia — 1 fêmea

15 — *Ancylometes selenkae* (Strand) 1909
Brasil — 1 fêmea

16 — *Ancylometes venezuelensis* (Strand) 1909
Venezuela — 1 fêmea

17 — *Ancylometes vulpes*, Bertkau 1880
Brasil — 1 fêmea

Material e métodos

Revimos os exemplares da coleção do Instituto Butantan, cêrca de 80 fêmeas e 30 machos, classificados sob *Cupiennius*, por apresentarem uma terceira garra e fórmula ocular 2-4-2. As procedências dêste material são as seguintes: Rio Grande do Sul (Santo Ângelo); Paraná (João Eugênio); São Paulo (Barretos, Bragança Paulista, Caieiras, Jundiaí, São Sebastião, etc.); Rio de Janeiro, Mato Grosso (Terrenos, Campo Largo, Rio das Mortes); Goiás (Ilha do Bananal); Pará (Belém do Pará), etc.

Todos os exemplares foram reclassificados, observando-se especialmente a terceira garra e também a forma do epígino da fêmea e do palpo do macho.

Verificamos que tôdas as aranhas estudadas apresentam uma terceira garra independente, inerme, ao lado das duas principais fortemente denteadas (ver figuras 1 e 2). Aferimos as medidas das pernas de 5 fêmeas e 3 machos, cujo resultado damos abaixo:

Fêmeas:	Fêmur	Patela	Tibia	Metatarso	Tarso	Total
perna I	12,5	7,0	11,0	9,0	5,0	44,5
perna II	12,0	6,2	9,8	9,1	5,0	42,1
perna III	11,0	5,5	8,3	9,3	4,7	38,8
perna IV	14,0	7,0	11,5	14,0	5,5	52,0
perna I	11,6	6,0	10,0	7,5	4,9	40,0
perna II	11,0	6,0	8,4	7,6	4,6	37,6
perna III	10,8	5,0	7,5	8,0	4,5	35,8
perna IV	12,0	5,2	10,1	12,8	5,1	45,2
perna I	12,0	6,1	9,9	8,0	5,0	41,0
perna II	11,0	5,7	8,9	7,8	4,1	37,5
perna III	10,5	5,0	8,0	8,2	4,5	36,0
perna IV	12,6	5,7	10,1	12,5	6,0	46,9
perna I	13,9	6,1	11,0	9,0	5,0	45,0
perna II	12,8	6,2	9,5	8,9	4,6	42,0
perna III	11,0	5,5	8,0	8,5	4,1	37,1
perna IV	13,2	5,7	11,0	14,1	5,5	49,5
perna I	10,5	5,0	8,0	7,3	4,5	35,3
perna II	9,0	4,5	7,1	7,0	4,5	32,1
perna III	9,0	4,1	7,0	7,2	4,5	31,8
perna IV	12,0	5,0	9,2	11,5	5,0	42,7

Machos:	Fêmur	Patela	Tíbia	Metatarso	Tarso	Total
perna I	14,9	6,0	14,1	15,0	7,5	57,5
perna II	14,0	6,0	13,4	14,0	6,1	53,5
perna III	12,0	5,0	11,0	13,0	6,0	47,0
perna IV	15,0	5,0	14,0	19,0	7,5	60,5
perna I	13,5	6,0	12,0	11,5	6,1	49,1
perna II	12,0	6,0	11,1	11,0	6,1	46,2
perna III	12,0	5,0	9,1	11,0	5,0	42,1
perna IV	13,0	5,0	12,0	15,3	6,2	51,5
perna I	14,0	6,5	13,1	13,1	7,0	53,6
perna II	12,8	6,0	12,0	12,1	6,0	48,9
perna III	11,0	5,0	10,0	11,5	5,0	42,5
perna IV	13,2	6,5	13,0	16,0	7,0	55,7

Os machos apresentam, portanto, pernas bem mais longas que as fêmeas, porém, em ambos os sexos a perna IV é a mais longa e a fórmula das pernas é 4 1 2 3.

A espinulação das pernas é a seguinte:

Fêmeas — Todos os fêmures com espinhos fortes distribuídos dorso-lateralmente. Patela I e II sem espinhos; III e IV com dois: um lateral interno e outro externo. Tíbia I com quatro pares de espinhos ventrais (um sub-basal, dois medianos e um apical). Sem espinhos laterais e nem dorsais. Tíbia II igual à tíbia I porém apresentando dois espinhos laterais internos. Tíbias III e IV com três pares de espinhos ventrais (sub-basal, mediano e apical), com dois espinhos laterais internos e dois externos e três dorsais. Metatarso I e II densamente escopulados até a base, com três pares de espinhos ventrais. Metatarso III e IV pràticamente sem escópula, mas com espinhos muito numerosos. Tarsos I e II densamente escopulados até a base, sendo a escópula dividida ao longo da região mediana, como indica a figura 3. Com três garras. Tarsos III e IV com escópulas divididas e numerosos espinhos curtos, principalmente na região ventral. Igualmente com três garras.

Machos — Os fêmures também com espinhos fortes. Patela I-IV com dois espinhos, um lateral interno e outro lateral externo. Tíbias I e II com quatro pares de espinhos ventrais, dois espinhos laterais internos, dois externos, três dorsais. Tíbias III e IV com três pares de espinhos ventrais, dois laterais internos, dois externos e três dorsais. Metatarsos I e II com três pares de espinhos ventrais, além de laterais e escopulados. Metatarsos III e IV com espinhos numerosos e fortes distribuídos por todo artículo. Tarsos I e II com escópula dividida e três garras. Tarsos III e IV também escopulados e com espinhos curtos, ventrais e três garras.

Quanto ao colorido, em geral êste fica muito alterado pela conservação em álcool. As fêmeas apresentam um colorido menos contrastante que os machos.

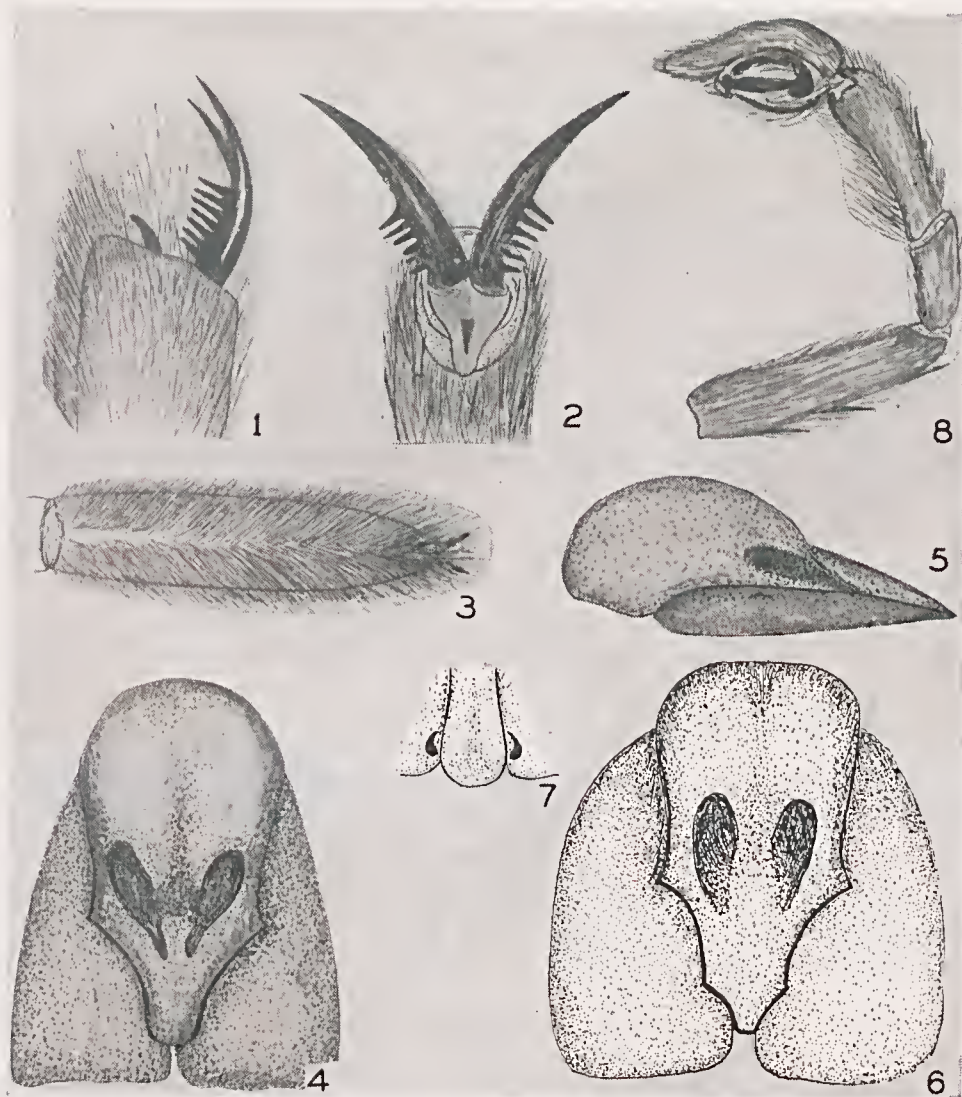



Fig. 1 — *Ancylometes bogotensis:* tarso 1 (fêmea), aspecto lateral.

Fig. 2 — *Ancylometes bogotensis:* tarso 1 (fêmea), aspecto ventral.

Fig. 3 — *Ancylometes bogotensis:* tarso 1 (fêmea, aspecto ventral, mostrando a escópula dividida.

Fig. 4 — *Ancylometes bogotensis:* epigino da fêmea, aspecto frontal.

Fig. 5 — *Ancylometes bogotensis:* epigino da fêmea, aspecto de perfil.

Fig. 6 — *Aneylometes bogotensis:* epigino da fêmea, aspecto frontal.

Fig. 7 — *Ancylometes bogotensis:* epigino da fêmea em desenvolvimento.

Fig. 8 — *Ancylometes bogotensis:* palpo do macho.

O cefalotórax apresenta três faixas e estrias radiantes, partindo das faixas marginais para a mediana. O abdome possui no dorso, no têrço anterior quatro pequenas depressões, cobertas por pêlos brancos em exemplares de conservação recente, escuras dispostas em dois pares. No têrço posterior há duas grandes manchas redondas formadas por pêlos claros. O ventre é escuro, apresentando quatro linhas claras, pontilhadas, que se iniciam logo atrás do sulco epigástrico e convergem para as fiandeiras. As pernas apresentam os fêmures, dorsalmente, anelados de claro e escuro.

O epígino possui forma muito peculiar, sendo formado por uma peça mediana, mais longa do que larga e muito saliente na região anterior, e duas peças laterais. Vide: Figs. 4, 5 e 6. A figura 7 mostra uma fase de desenvolvimento.

O palpo do macho apresenta no ápice da tíbia duas apófises, sendo a interna mais curva e menor (Fig. 8).

Discussão

Todos os exemplares estudados pelos caracteres apresentados não pertencem ao gênero *Cupiennius*, mas ao gênero *Ancylometes*. Classificamos esta nossa espécie sob *Ancylometes bogotensis* (Keyserling) 1876.

Infelizmente não pudemos dispor de nenhum exemplar pertencente ao gênero *Cupiennius*. Êste, além de se distinguir pela terceira garra, segundo Simon, um caráter que necessita de reestudo, apresenta (pela descrição do gênero dada por Cambridge (3) e pela dada por Keyserling (4) para *Cupiennius sallei*) a perna I mais longa de tôdas, sendo a fórmula 1 2 4 3.

1 — *Ctenus originalis*, Mello Leitão 1936

Revimos o tipo, uma fêmea de Itatiaia, que gentilmente nos foi cedido pela direção do Museu Nacional do Rio de Janeiro.

O exemplar apresenta:

1) uma terceira garra nos tarsos, independente e inerme;

2) fórmula das pernas 4 1 2 3;

3) escópulas tarsais densas e divididas na linha mediana;

4) margem inferior do sulco ungueal com quatro dentes, sendo o terceiro menor;

5) fórmula ocular 2 4 2;

6) dorso do abdomen com quatro pequenas depressões escuras no têrço anterior e ventre com quatro linhas claras, pontilhadas, que convergem para as fiandeiras;

7) epígino ainda não completamente desenvolvido, porém não se distinguindo daquele apresentado por *Ancylometes bogotensis.*

Portanto, *Ctenus originalis,* Mello Leitão 1956 é sinônima de *Ancylometes bogotensis* (Keyserling) 1876.

2 — *Cupiennius argentinus,* (Holmberg) 1881

A fórmula das pernas é 4 1 2 3. Segundo o autor é uma aranha, que pelo modo de vida e pelo aspecto lembra uma *Lycosa.* Pela descrição dada não a distinguimos de *Acylometes bogotensis,* (Keyserling) 1876.

3 — *Cupiennius diplocellatus,* Mello Leitão 1936

Mello Leitão (5) coloca esta sua espécie no gênero *Cupiennius,* pois: "...entre as unhas há uma plântula com uma apófise curva, em forma de unha de gato". Infelizmente o tipo, uma fêmea de Terrenos, Mato Grosso, que consta estar na coleção do Instituto Butantan, sob número 117, encontra-se perdido. Portanto, esta terceira garra não pôde ser observada. Pela fórmula das pernas, a espécie pertence à *Ancylometes.* Pelo colorido não se distingue de *Ancylometes bogotensis,* com a qual a colocamos em sinonímia. Possuímos, da localidade, um tipo de macho jovem, que também classificamos sob *Ancylometes bogotensis* e ainda de Mato Grosso (Campo Largo e Rio das Mortes) possuímos fêmeas e machos adultos, todos pertencentes à mesma espécie.

4 — *Cupiennius celerrimus,* Simon 1891

Pela descrição original de Simon, autor do gênero e da espécie, não pudemos identificar se se trata realmente de uma espécie boa pertencente ao gênero *Cupiennius.* É necessário fazer uma revisão do tipo, a fim de esclarecer esta dúvida.

5 — *Cupiennius granadensis,* (Keyserling) 1876

Pela fórmula das pernas 4 1 2 3, trata-se de uma espécie pertencente ao gênero *Ancylometes.* Pelas medidas parece ser um exemplar jovem de *Ancylometes bogotensis.*

6 — *Cupiennius ahrensi,* Schmidt 1959

A julgar pelas ilustrações e fórmula das pernas, fornecidas pelo autor, deverá igualmente ser enquadrada sob *Ancylometes.*

Agradeço ao Dr. Wolfgang Bücherl, chefe da Secção de Artrópodos Peçonhentos, a orientação prestada durante a elaboração dêste trabalho.

Resumo

1) Pelo presente trabalho são aferidos os principais caracteres diferenciais entre os gêneros *Ancylometes,* Bertkau 1880 e *Cupiennius,* Simon 1891.

2) As espécies *Ctenus originalis,* Mello Leitão 1936; *Cupiennius argentinus,* (Holmberg) 1881; *Cupiennius diplocellatus,* Mello Leitão 1936; *Cupiennius granadensis,* (Keyserling) 1876; *Cupiennius ahrensi,* Schmidt 1959, são enquadradas sob *Ancylometes.*

Summary

1) This paper describes the principal differential characteristics between genera *Ancylometes,* Bertkau 1880 and *Cupiennius,* Simon 1891.

2) The species *Ctenus originalis,* Mello Leitão 1936; *Cupiennius argentinus,* (Holmberg) 1881; *Cupiennius diplocellatus,* Mello Leitão 1936; *Cupiennius granadensis,* (Keyserling) 1876 and *Cupiennius ahrensi,* Schmidt 1951 are included under the name *Ancylometes.*

Bibliografia

1. *Bertkau,* 1880 — *Mem. Class. Sci.,* 43:114.
2. *Simon,* 1891 — *Bull. Soc. Zool.,* France — Vol. XVI.
3. *Simon,* 1898 — *Hist. Nat. Araign.,* 2(2):207-208.
4. *Cambridge, F.,* 1901 — *Biol. Centr. Amer. Aran.,* 2:308.
5. *Keyserling,* 1876 — *Verh. Zool. Bot. Ges.,* Wien, 26:685.
6. *Mello-Leitão,* 1936 — *Festschr. Strand,* 1:21.

ALTERAÇÕES ESPONTÂNEAS DA BASE DE IMPLANTAÇÃO E DA TÚNICA MÉDIA MUSCULAR DA AORTA DE COBAIAS. ASPECTOS MORFOLÓGICOS SUGESTIVOS DO SEU DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DA FREQÜÊNCIA *

JESUS CARLOS MACHADO

Laboratório de Anatomia Patológica, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

A importância primordial das alterações cárdio-vasculares humanas, justificam meritòriamente o relato das lesões ou formações encontradas nessas localizações. em animais, principalmente nos de laboratório. Assim, quer aspectos vasculares degenerativos espontâneos, quer a presença de nódulos cartilaginosos e ósseos ocasionais, no coração, emergência da aorta e na aorta pròpriamente dita, têm sido relatados freqüente e justamente na literatura.

Hueper (6) descreveu focos cartilaginosos em coração de ratos e camundongos, acentuando a semelhança dos mesmos àqueles encontrados em corações de mamíferos (cavalo, carneiro, búfalo e coelho), aves (galinhas) por Reterer e Lellieve. Kern, Hausotter, Favaro, Greil, Beddard e Mitchell, Stiefel e Benninghoff. Os nódulos localizavam-se no anel fibroso da aorta na porcentagem de 3,3% nos ratos (100 em 3.000) e 1,5% nos camundongos (15 em 1.000). Acrescenta Hueper que êsses dados devem ser mais freqüentes, mas que provàvelmente a menor incidência decorre do fato de por vêzes os cortes não serem felizes, não atingindo a região pretendida. Em outros trabalhos, Hueper (5, 7, 8) descreve-os em coelhos, onde confirma os achados de Vanzetti (15), considerando-os juntamente com êsse autor, como devido a metaplasia normoplástica, ao contrário de Dratschinski (cit. Hueper (6)) que os associou à alteração patológica. Relatou ainda a presença de tecido ósseo, com medula, na aorta de cão. Seegal e Seegal (13) observaram idênticos achados em 1 coelho de 30 estudados. Jaffé e Gavaller (9) descreveram também nódulos cartilaginosos em coração e aorta de ratos. Dentre centenas de ratos utilizados, ora como contrôle, ora servindo às mais diversas experimentações, encontraram em 18 dêles, nódulos cartilaginosos com localizações diversas, no endocárdio, musculatura papilar e base de implantação da aorta, túnica média. Interpretaram os nódulos de localização miocárdica, como

---

* Trabalho realizado com auxílio do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.

Recebido para publicação em maio de 1963.

conseqüência de pequenos enfartes instalados por alteração das coronárias. Supuseram Jaffé e Gavaller (9), que "isso se deu porque a musculatura foi danificada por falta de circulação do sangue, formando tecido conjuntivo, e êste, posteriormente, foi transformado em cartilagem que depois se calcificou". Citam os trabalhos de Willem e Sproul (16) que encontraram, também em corações de ratos, focos de fibrose, correlacionados por êles com a esclerose das coronárias que nos casos estudados, sempre foram paralelos à extensão da fibrose. Quanto à interpretação dos focos cartilaginosos na base de implantação da aorta, acentuam ser difícil compreendê-la, acreditando que, talvez, se devam a "alteração focal degenerativa" na musculatura do vaso, se bem que não tivesse sido encontrado nenhum outro foco. Quanto à possibilidade de serem encontrados focos cartilaginosos em outras espécies animais, principalmente nos de laboratório, é admitida, e mesmo sugerida, por Jaffé e Gavaller (9). Acreditam êsses autores que a raridade de tais encontros se deva, provàvelmente, à não realização de estudo sistemático em animais mais idosos. Barasa e Gobetto (4) afirmam de modo geral, que a presença de cartilagem cardíaca é constante em muitas espécies — ruminantes, eqüídeos, pequenos roedores e insetívoros — inconstante em outros — carnívoros — pequena e inconstante nos primatas ou representando exceções ocorrendo em raríssimos casos — homem.

Pelos trabalhos aqui assinalados observamos que tem sido relatada, ocasionalmente ou de forma mais ou menos sistemática, nas diversas espécies animais, a presença de nódulos cartilaginosos, seja no miocárdio, seja no chamado anel fibroso da aorta. Os diversos autores, segundo a interpretação fisiopatológica dêsses achados, podem ser agrupados da seguinte forma: o primeiro grupo, representado por Vanzetti, Hueper, Barasa e Gobetto, acredita constituir essas formações simples metaplasia normoplástica, enquanto que o segundo grupo, constituído por Dratschinski, Jaffé e Gavaller, Willem e Sproul, interpretam-nas como devidas ora a fatôres tensionais, ora secundários a outras alterações. Jaffé e Gavaller (9) lembram mesmo "a característica especial dos ratos em produzir cartilagem nos processos patológicos". Enquanto Barasa e Gobetto (4) afirmam ser constante o encontro dessas formações em pequenos roedores, Miller (11) afirma não tê-las encontrado quer na musculatura cardíaca, quer na implantação da aorta em seus estudos sôbre miocardites espontâneas em coelhos. Devemos desde já dissociar o que é constante do que é freqüente. O constante pressupõe continuidade e o freqüente descontinuidade. O fato de uma formação apresentar caráter constante não justifica, sòmente por isso, a conclusão de que ela seja anatômica. Há na patologia humana um exemplo análogo, qual seja a Arterioesclerose, que sendo constante em tôdas aortas, em indivíduos acima dos 40 anos, é justamente interpretada como sendo processo degenerativo e não fato anatômico. Devemos lembrar ainda que as artérias dos animais são passíveis de sofrerem processos degenerativos.

No tratado sôbre a "*Patologia especial dos animais de laboratório*", de Ernst Joest, no capítulo sôbre artérias, de Ackerknecht e Krause (3), é relatada a presença de focos cartilaginosos, por vêzes ossificados na túnica média da aorta. Devem-se êsses focos, segundo Ackerknecht e Krause a processo inflamatório-proliferativo que ocasiona a metaplasia. Citam os trabalhos de Spiegel, na aorta de um velho cão de caça e os de Wolkoff na aorta de papagaios. Chamam atenção para a necessidade de proceder-se ao exame histopatológico do material suspeito, porque há "espessamentos hialinos do tecido conjuntivo que podem perfeitamente simular cartilagem". No capítulo sôbre coração, de Ackerknecht (2), citando Weish, comenta a presença de osso ou cartilagem no anel fibroso da aorta de cavalos, bois, porcos e ainda cães e gatos, sem menção a qualquer interpretação patogenética.

Nieberle (12), estudando a arterioesclerose dos animais domésticos, mostra em dois desenhos a presença de metaplasia óssea em aorta de cavalos e lipoidose da íntima com metaplasia cartilaginosa em aorta de papagaio. Tibiriçá (14), estudando a cicatriz do ducto arterioso do boi, descreveu alterações de calcificação "de tôda espécie de fibra" da parede, precedida geralmente de esteatose ou de necrose. Raramente encontrou nessas zonas "processos de homogeinização do tecido conjuntivo proliferado com formação de cavidades (estádio menos raro) seguido de formação de cartilagem e finalmente osso, com sistema de Havers e com medula óssea amarela".

Desta breve análise de vários trabalhos encontrados na literatura, não verificamos a descrição específica de tais achados em cobaias, a despeito da afirmação genérica de Barasa e Gobetto (4) de ser constante em pequenos roedores. Ainda mais, que houve da parte dos pesquisadores ausência de estudo sistemático do processo, nos pequenos roedores e que a descrição dos mesmos se refere, de modo geral, a casos fortuitos revelando casuística inexpressiva, levando autores como Jaffé e Gavaller (9), a acentuar dever ser mais freqüente se melhor estudados. Finalmente, devido à ausência de cortes sistemáticos, não há a verificação documentada de possíveis alterações pregressas mostrando a evolução de tais processos, dificultando a exata interpretação fisiopatológica dos mesmos.

Pretendemos, neste trabalho, não só demonstrar que também em cobaias ocorre a presença dessas alterações na média da aorta próxima à sua base de implantação no miocárdio, mas também que a incidência destas alterações patológicas, em cobaias, diferem significativamente das outras espécies, até aqui estudadas. Ainda mais que, o estudo sistemático dessa região, demonstra a possibilidade de se observar alterações pregressas que possibilitam provável interpretação fisiopatológica do início e evolução do processo.

Material e métodos

Em trabalho que realizamos sôbre o quadro anátomo-patológico apresentado por cobaias inoculadas com *Mycobacterium tuberculosis* (em colaboração com a Secção de Bacteriologia do Instituto Butantan — Dra. Jandyra P. do Amaral), procedemos a cortes sistemáticos do coração, abrangendo a emergência da aorta. Examinamos dessa forma, o coração e aorta de 90 cobaias subdivididas em três grupos: 1 — contrôle (10 cobaias); 2 — grupo inoculado subcutâneamente com *Mycobacterium tuberculosis* (58 cobaias); 3 — grupo vacinado prèviamente com BCG por via oral e posteriormente inoculado subcutâneamente com *Mycobacterium tuberculosis* (22 cobaias). O coração foi cortado à altura da emergência da aorta, ao meio, no sentido do maior eixo, e totalmente incluído em parafina. Três a quatro cortes de 7 micra foram estudados para cada bloco e corados pela hematoxilina-eosina.

Resultados

O estudo dêsse material revelou, indistintamente, nos três grupos de cobaias, a existência de alterações degenerativas com grande freqüência (Tabela 1), sem qualquer substrato inflamatório pregresso, tanto na base de implantação como na média muscular.

Observa-se que inicialmente aparece um espessamento localizado do colágeno, na base de implantação que se confunde com área hialinizada que compromete também a média muscular (Fig. 1). Por vêzes, a hialinização adquire aspecto cartilaginóide, ocupando extensa área (Fig. 2). Nas cobaias mais idosas — acima de 360 dias de idade (Tabela 4) — notamos a presença já de áreas cartilaginosas de matriz basófila, ora em meio a área hialinizada (Fig. 3), ora ao lado de área osteóide (Fig. 4). A figura 5 revela aspecto transicional de zona cartilaginosa para típica trave óssea, notando-se pequeno capilar neoformado. Achados ocasionais de nódulos sem aspectos transicionais pregressos são revelados pela figura 6. Êsses aspectos foram encontrados em cobaias dos três grupos acima referidos.

TABELA 1

Degeneração hialina isolada	30 casos
Nódulo cartilaginoso isolado	7 "
Nódulo cartilaginoso + Ossificação	1 "
Total de casos	38 "
Total de cobaias	90
Porcentagem de	40,2%

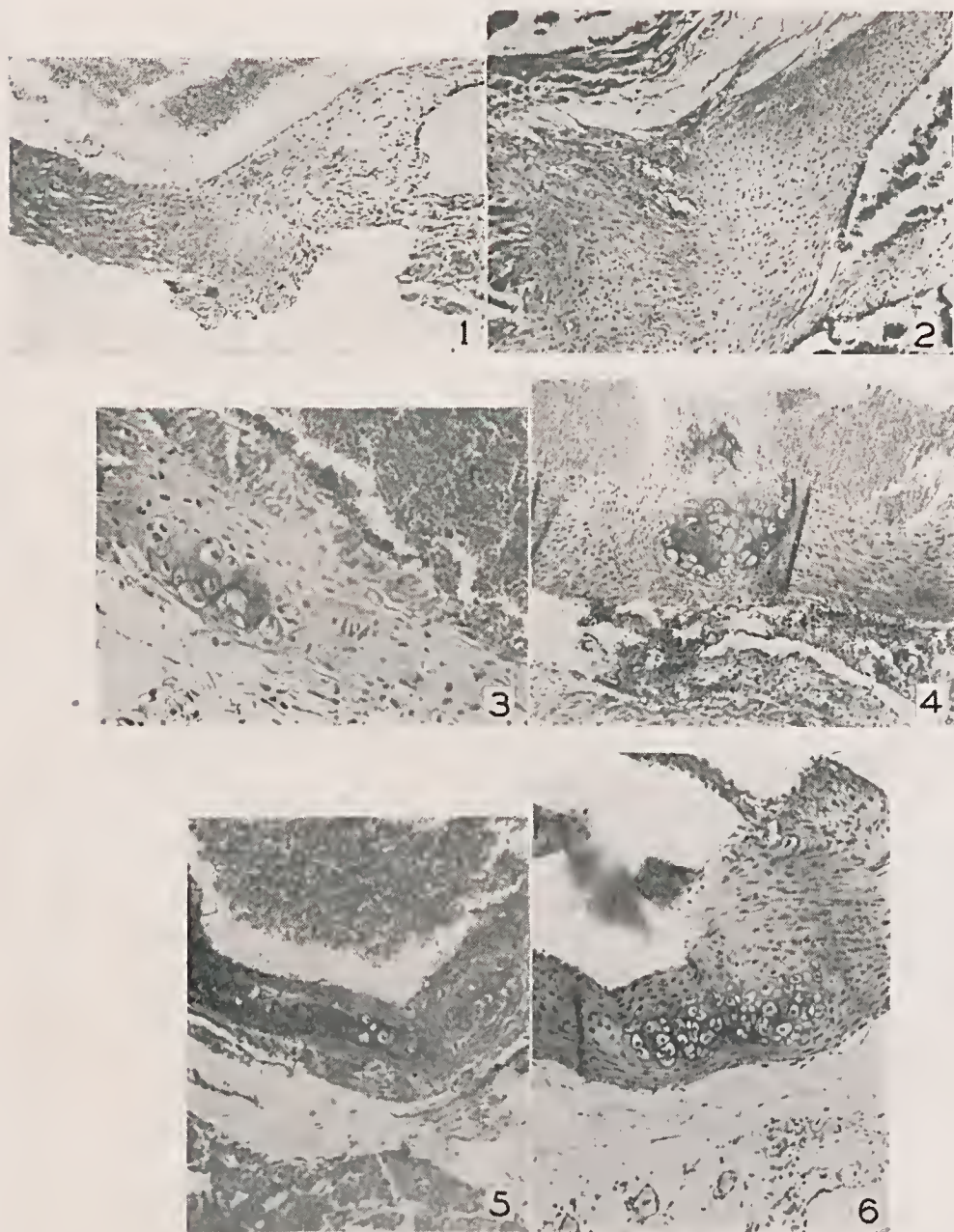
TABELA 2

Degeneração hialina isolada	30 casos
Tótal de cobaias estudadas	90
Porcentagem de	33,3%

TABELA 3

Nódulo cartilaginoso (com ou sem ossificação)	8 casos
Total de cobaias estudadas	90
Porcentagem de	8,8%

TABELA 4 — CASOS COM AS LESÕES OBSERVADAS SEGUNDO A IDADE DAS COBAIAS

Idade (dias)	Hialinização base implantação	Hialinização média aorta	Cartilagem hialina	Cartilagem calcificada	Ossificação
Até 80 dias	+	—	—	—	—
De 80 a 150	++	+	—	—	—
De 150 a 360	+	++	+	+	—
De 360 a 520	+	+	+	+	+

Figs. 1 a 6 — Cortes histológicos de aorta de cobaias.

Discussão

A observação puramente morfológica do quadro apresentado pelas diversas cobaias nos sugere que estas lesões degenerativas têm caráter progressivo, de acôrdo com a idade das cobaias. Inicia-se como simples degeneração hialina localizada das fibras colágenas, comprometendo também a média muscular da aorta, evoluindo para tecido cartilaginóide, constituindo posteriormente típicos nódulos cartilaginosos com metaplasia óssea final. Essa interpretação só é possível analisando-se cortes sistemáticos de grande número de animais, pôsto que o encontro de aspectos fortuitos isolados, como o da figura 6, não nos poderia fornecer subsídios para essa interpretação, o que geralmente ocorre, com a maioria dos trabalhos que encontramos a êsse respeito. Além do que, a grande freqüência dos nossos achados (Tabelas 1, 2, 3) deve-se à sistematização do estudo.

O encontro dessas alterações nos três grupos de cobaias afasta possível etiologia tuberculosa, mesmo porque não se observaram lesões inflamatórias específicas ou inespecíficas nesses locais. Êste fato é corroborado pelas observações de Jaffé e Gavaller (10) nos seus 18 casos de ratos, onde verificaram o aparecimento de lesões indistintamente, tanto nos animais contrôle como nos de experimentação e ainda pelos achados de Willens e Sproúl (16) em corações de ratos.

Êsses aspectos morfológicos das lesões da média muscular, sem comprometimento da íntima e adventícia, assemelha-se, a nosso ver, à médio-esclerose de Mönckberg das artérias da extremidade, e mais de longe, com as escleroses funcionais da média das artérias útero-ovarianas, segundo a descrição dêsses processos por C. Benda (cit. Aschoff).

C. Benda (1) admite para a médio-esclerose de Mönckberg, além dos transtôrnos metabólicos, um fator tensional, representado pela "sobrecarga estática que pesa sôbre as extremidades inferiores". Hueper (6) também crê para os animais uma etiologia devido a fatôres tensionais. Acreditamos também, pela ausência de lesões inflamatórias e de focos necróticos na musculatura (como se obtém experimentalmente pela Adrenalina e Vigantol — Aschoff (1)), essa hialinização inicial deva-se a fatôres tensionais que desencadeiam o processo. Pode êle chegar até a ossificação se a cobaia atingir tempo de vida compatível.

Dessa forma, as observações dêste trabalho, registradas em aorta de cobaias, nos permitem descrever não só a presença de nódulos cartilaginosos e traves ósseas em tal espécie, com incidência bem maior do que aquelas citadas em outras espécies, bem como através documentação de aspectos morfológicos sugestivos da evolução de tal processo.

Resumo

Em cobaias normais, ou inoculadas com *Mycobacterium tuberculosis* ou com BCG, foi observada a presença de nódulos cartilaginosos e traves ósseas na média da aorta, logo após a emergência do miocárdio. Verificou-se ainda que a ocorrência destas lesões em cobaias é superior a de outras espécies estudadas por outros autores. É discutida a origem e evolução dêste processo patológico.

Summary

The presence of cartilagenous nodules and bone trabeculae in the muscularis media of the aorta, immediately after the emergence of the pericardium, was found in normal guinea-pigs and in guinea-pigs injected with BCG or with *Mycobacterium tuberculosis*. The observed incidence of these lesions in guinea-pigs was found to be greater than the observed occurrence of the same pathological process in other animal species, as reported by previous authors. The origin and evolution of this process is discussed.

Bibliografia

1. *Aschoff, L.* — *Tratado de Anatomia Patológica*, Ed. Labor S.A., 1934.
2. *Ackerknecht, E.* — *Spez. Pathologie der Haustire*, vol. IV, pg. 323 (Berlin — Verlagbuchhandlung von Richard Schoetz), 1925.
3. *Ackerknecht, E.* u. *Krause, C.* — *Spez. Pathologie der Haustiere*, vol. V, pg. 58 (Berlin — Verlagbuchhandlung von Richard Schoetz), 1929.
4. *Barasa, A.* e *Gobetto, A.* — *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria*, vol. XI, 1958.
5. *Hueper, W. C.* — *Arch. Path.*, **20**:708, 1935.
6. *Hueper, W. C.* — *Arch. Path.*, **27**:466, 1939.
7. *Hueper, W. C.* — *J. A. Vet. M. A.*, **101**:493, 1942.
8. *Hueper, W. C.* — *Arch. Path.*, **39**:89, 1945.
9. *Jaffé, R.* e *Gavaller, B.* — *Pathologie der Laboratoriumstiere*, pgs. 6/12 (Berlin. Göttingen, Heidelberg), 1958.
10. *Jaffé, R.* e *Cavaller, B.* — *Rev. Fac. Med. Caracas*, **2**:3, 1956.
11. *Miller, C. P.* — *J. Exp. Med.*, **40**:543, 1924.
12. *Nieberle, K.* — *Lehrbuch der Spez. Pathologischen Anatomie der Haustiere*, pg. 42, 3ª ed. (Verlag von Gustav Fisher in Jena), 1949).
13. *Seegal, B. C.* and *Seegal, D.* — *Arch. Path.*, **6**:73, 1927.
14. *Tibiriçá, P. Q. T.* — *Anais da Fac. de Med. S. Paulo*, vol. **4**:157, 1929.
15. *Vanzetti, E.* — *Arch. Ital. Biol.*, **56**:265, 1911.
16. *Willens, S. L.* and *Sproul, E. E.* — *Am. J. Path.*, **14**:117, 1938.

CONTRIBUTION TO THE STUDIES OF COAGULOGRAM IN THOROUGHBRED HORSES *

L. F. MARTINS

Department of Histology and Embriology — School of Veterinary Medicin
University of São Paulo — Brasil

Referring to the literature on the subject, we see a few controversial points have been established in relation to the coagulation phenomenon in horses. Soulier and Larrieu (55) suggested that horses' blood had the coagulation factors on concentration similar to that of human beings but Bell et al. (11 and 12) came to the conclusion that notable difference exist between these factors of the two mentioned species believing that horses' blood is deficient in antihemophilic globulin. Sjolin (52), disagreeing with the above writers, first admitted deficiency of Christmas factor but afterwards (53) set a different concept then accepting that there was probaly an insufficiency of a factor quite similar or identical to Hageman's. Barkhan et al. (7) acquiesced with the works of Bell et al. (11 and 12) while Fantl and Marr (25), on the other side, concluded that the thromboplastinic factors of the blood of human beings and horses markedly differ in quantity but are quite similar in their action. Grecchi et al. (29), ratified Bell's et al. (12) previous conclusion about the differences in thromboplastinic action.

Fantl and Marr (25) found out that it occurs greater activity of Factor V in horses' blood than in human blood, although Barkhan et al. (7) noticed no differences between them in the whole prothrombinic complex.

Fantl and Ward (26) demonstrated that quantity of prothrombine in horses's normal blood is similar to that in man's thrombocitopenic blood, which suits the affirmation that animal has inadequate number of platelets thus presenting smaller tendency to free phospholipids (Fantl and Marr — 25).

Spontaneous hemorrhages rarely occur in horses (Miller — 37) whereas these animals are entitled to have hemophilioid diseases or others related to the processes

---

* Ph.D. thesis presented to the Department of Histology and Embriology, School of Veterinary Medicin — U.S.P., 1962.

This work has been completed with the help of Research Funds of Instituto Butantan, in the Laboratory of Hematology of the Same Institute.

Received for publication in July 24, 1964.

of coagulation or hemostasis in horses. Barkhan (6) calls the attention to the question even though he did not yet observe any real case of it. The petequial fever, morbo maculoso or hemorrhagic purpura in horses, nosologic entity known for a long time, having a discussed etiology would be a non-thrombocitopenic purpura, as concluded by Biggers et al. (13). Hemorrhagic states after castration, has been object of study by several authors (19, 49, 64) and it has been denominated by Chapron (18), Castration Hemophily, who admitted that hormonal disturbances should probably be the cause for it. Volkmar (60), also described hemorrhagic diseases in various animals including horses, in which coagulation time was too long or at times blood coagulation didn't even occur.

As to horses' epistaxis, whose origin is quite unknown, is not yet completely set it to be independent of alterations in blood coagulation, as well as the infeccious anemies in horses, which may alter the coagulation process (31 and 33).

Several authors (17, 18, 22, 24, 34, 40, 42, 57) have done qualitative studies comparing blood coagulation in horses and other species.

Experiments for avaliation of the blood coagulation phenomenon and determination of normal values for horses, were subject of a few written works which, however, due to several reasons, cannot be used as standards for the whole specie either because tests have been made with few or not accurately characterized animals or because they were not perfectly padronized. Concerning literature, as follows: Adams (1), Aparici (2), Archer (4), Awad and Morcos (5), Barkhan (7), Behrens (9), Bell et al. (12), Burker (16), Diaz (23), Florio (28), Schwayer (50), Sippel (51), Sopeña (54), Van Wassenhove (58), Villard (59), Weiser (62).

So, in order to clarify facts which would permit to precise the true character of the interrelated factors in blood coagulation in horses, as well as to set the real scheme of the different hemorrhagic syndromes in this whole specie, it seemed to us fundamentally important to determine the normal values for the commonest tests used in the avaliation of blood coagulation. Thoroughbred Horses were chosen for this work because they have great clinic interest, they are a quite homogeneous group and they offer great possibilities for investigation of hereditary factors if any pathological process appears.

Contradictory notes can be found about the hormonal influence on blood coagulation (8, 21, 32, 36). So, in our experiment we aimed at the determination of the average populational values for the tests of: coagulation time, coagulation time of recalcified plasma, platelet counts, clot retraction, prothrombin time, thromboplastin generation test, at the same time that we tried to prove the nullity hypothesis of non-difference between sex, in relation to the mentioned tests, adopting the rejection level of 5%.

Material and methods

The blood submitted to different experiments at the Jockey Club of S. Paulo, was taken out of fifty Thoroughbred horses 25 females and 25 male horses between 2 and 5 years, considered healthy clinical, neither presenting serious nor slight hemorrhages and all of them were submitted to a similar diet. The material was collected from the jugular vein, being a siliconized syringe used after the animals rest, this is, three hours after the morning training.

Coagulation time — It was performed by according to Lee White's technique (35), using two tubes of 100/13 mm and the reading was done every 60 seconds.

Coagulation time of recalcified plasma — The technique described in Quick (44 — pg. 363) was adopted. We obtained the plasma used by centrifugation at 1.500 r.p.m. during 10 minutes of oxalated blood at 10% with an acqueous solution of 0.1 M of sodium oxalate. The test was made within the first hour after the blood was taken out and the calcium used came from a 0.02 M solution of calcium chloride. The test performed in two 100/13 mm tubes had its result expressed by the tube that coagulated in the first place.

Platelet counts — The blood for the platelet counts was collected in siliconized flasks containing the dissodic salt of the ethylenediaminotetracetic acid (EDTA Na_2) in a 10% solution and in the proportion of 5 mg of salt for 5 ml of blood. The method of Feissly and Lndin (27) modified by Rosenfeld (56) was followed. The suspension was made in a hematimetric pipette for leucocyte counts, in the proportion of 1:20 and the count in the Neubauer camera under phase microscopy, in a 2 mm² area.

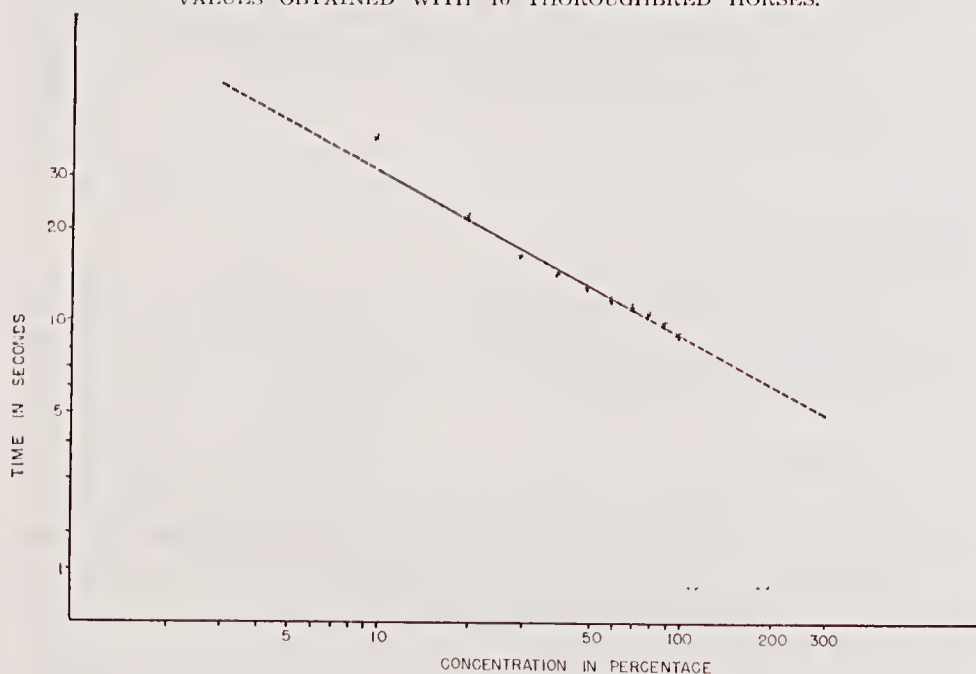
Clot retraction — We measured according to the method preconized by Rosenfeld (46). The test was performed in a water-bath at the temperature of 37°C and the reading made three hours after the coagulation.

Prothrombin time (prothrombin complex) — The method of a stage introduced by Quick (39) was followed in the performance of this test we used the same oxalated plasma utilized for the coagulation time of recalcified plasma test. The thromboplastin was prepared with the rabbit's brain according to Quick's technique (41). The thromboplastin suspensions were preserved in the ice box +5°C and used in the maximum for 10 days, considered adequate for the use when the

time of normal prothrombin, this is, 11 to 12 seconds was given to the human plasma. The calcium chloride used was 0.02 M. The verifications were made three times and it was considered as the result which was repeated; when there was a disagreement, new determinations were made until the values agreed. Curves of prothrombin dilution were made for the transformation of the data in concentration.

In order to perform this curve, plasma of 10 animals was obtained, which presented a prothrombin time near to the medium value. Two series of dilutions were prepared for each animal and the average of the values obtained in the first and second were calculated. The average of each concentration in the 10 animals represented the normal index for that concentration. The same criterion described for the reading of prothrombin time is here followed. The final curve transcribed to the dilogarithmic paper, can be changed, permitting the extrapolation of the values not within the amplitude of the data (graph. 1). The results expressed % of time of the prothrombinic complex.

FIGURE I

REFERENCE CURVE OF PROTHROMBINIC ACTIVITY IN RELATION TO TIME IN SECONDS AND PERCENTAGE OF CONCENTRATION, CONSTRUCTED WITH VALUES OBTAINED WITH 10 THOROUGHBRED HORSES.

Consumption of prothrombin — The technique of Quick (43) was used modified by Rosenfeld (48). 5 ml of blood were taken out placed in tubes of 100/13 mm and left in a water-bath at a temperature of 37°C. When it coagulated, the time was marked and the displacement of the clot was promoted. 59 minutes after the coagulation, the material was centrifuged for one minute and the supernatant was taken off and afterwards kept, in ice-bath; the quantity of residual prothrombin was tested by the time it took to coagulate the mixture of this serum with thromboplastin and calcium, having as a resource of fibrinogenous oxalated plasma absorbed by barium sulphate, washed according to the technique described by Biggs and MacFarlane (15) used in the proportion of 0.1 g for 1 ml of plasma. The absorption took place in the water-bath for 30 minutes; the tubes were agited from time to time and afterwards they were centrifuged at 2,500 r.p.m. during 10 minutes, being the supernatant taken off. The plasma was considered adequate for use, when its prothrombin time was more than 4 minutes. As a resource of calcium, the 0.02 M solution of calcium chloride was also adequate. Three tests were performed, that followed the same criterion adopted for the reading of the prothrombin time. The times obtained were transformed in concentration by means of the curve of prothrombin dilution, and that represented the residual prothrombin after the evolution of the coagulation process for 60 minutes. Knowing the percentual quantity of the plasma prothrombin, the prothrombin was obtained — consumed by the following calculations:

$$C = \frac{100 \times B}{A}$$

$$D = 100 - C$$

A = Total prothrombin expressed in % of time.

B = Residual prothrombin expressed in %.

C = Residual concentration calculated at a rate of 100% of total prothrombin for the animal.

D = % of consumed prothrombin.

Thromboplastin generation — Biggs and Douglas's (14) technique was followed. The animals were divided in 2 groups of 24 and 26, formed of male and female horses in equal numbers. In the first group, the test was performed with suspension of the platelets of the own animal and in the second, the phospho-

lipids obtained of human cerebrum treated by acetone, according to Bell's and Alton's (10) technique. The citrated plasma absorbed by the oxalated plasma treated with sulphate of barium, according to the rule above described. The platelets for suspension came from the blood collected with sodium citrate in a physiological solution at 3.8% in the proportion of 10% of the total volume. The platelets were washed twice in a solution containing 3.8 g of sodium citrate and 0.1 g of dissodic salt of the ethylenediaminotetracetic acid for 100 ml of distilled water and afterwards washed once more with a physiological solution. being finally suspended in the same solution obeying a concentration, that is about three times bigger than be one of the plasma. In the systems prepared with phospholipids in substitution to the suspension of platelets, a preparation was used that contained 0.12 mg of that material by ml, the most active concentration of a tested series. The resource of fibrinogen was plasma oxalated from the own animal, poor in platelets and of calcium, calcium chloride in a 0.2 M solution. The test lated 8 minutes; two verifications were made for each animal and the

FIGURE II

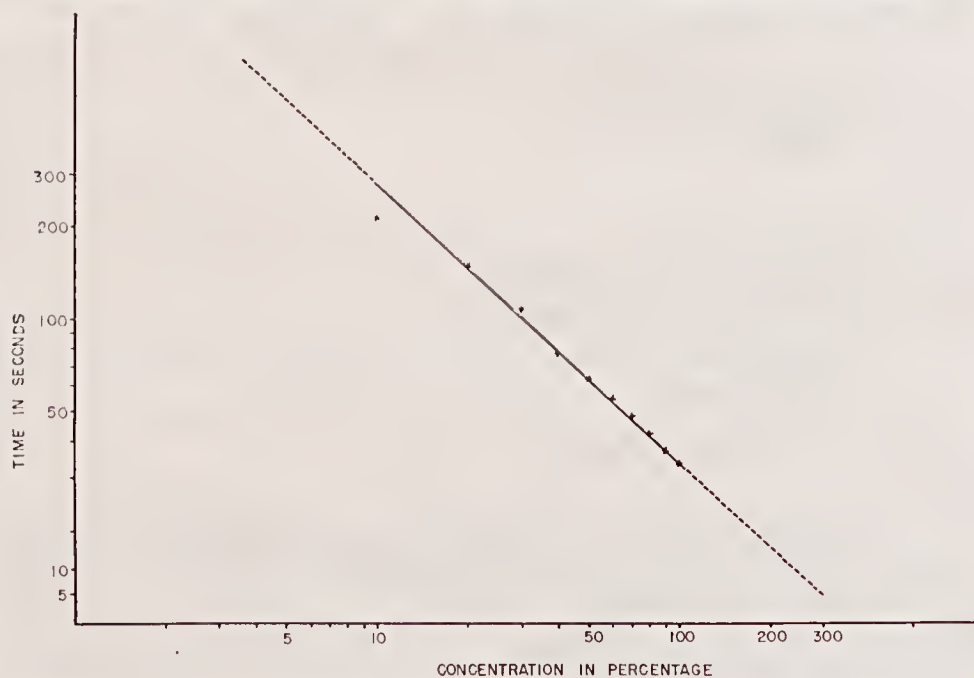
CURVE OF THROMBOPLASTINIC ACTIVITY WITH PLATELETS SYSTEM IN RELATION TO TIME IN SECONDS AND PERCENTAGE OF CONCENTRATION, CONSTRUCTED WITH VALUES OBTAINED WITH 5 THOROUGHBRED HORSES.

result corresponded to the average of these tests. A thromboplastin dilution curve for the transformation of the results in concentrations was built. For this, 5 Thoronghbred horses were used, chosen among a many others, which presented in the thromboplastin generation, an index of high activity. For every animal, 2 series of dilutions with platelets were prepared and 2 with cephaline, from systems in which the generation was interrupted by a sudden fall of the temperature in ice-bath, when the generation was at the maximum and considered 100%. Three determinations of activity for each concentration were done the average was calculated. For every animal, one dilution curve for the platelets and another for the cephaline was obtained, given by the average of every concentration in the two dilution series. The average of the curves in the 5 animals tested, provided the standard-values, which could be checked on the dilogarithmic paper, permitting the extrapolation of the values, not within the amplitude of the data (graphs II and III).

FIGURE III

REFERENCE CURVE OF THROMBOPLASTINIC ACTIVITY WITH PHOSPHOLIPID SYSTEM IN SECONDS AND PERCENTAGE OF CONCENTRATION, CONSTRUCTED WITH VALUES OBTAINED WITH 5 THOROUGHBRED HORSES.

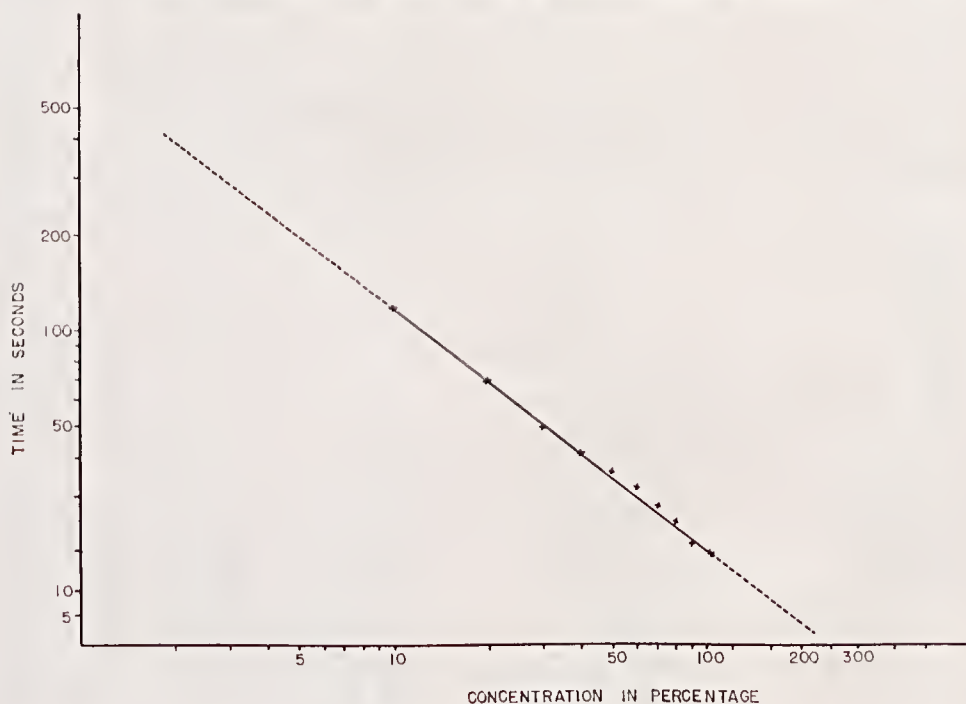



TABLE I — SUMMARIZED DATA OBTAINED FOR THOROUGHBRED HORSES, ACCORDING TO SEX, IN RELATION TO THE TESTS PERFORMED AND TO THE CALCULATED MEASURES OF POSITION AND VARIABILITY

Tests / Measures	Clotting time (minutes)				Clotting time of recalcified plasma (sec.)		Platelets 10^3 mm³		Clot retraction		Prothrombin time (sec.)		Prothrombin consumption (%)	
	1st tube		2nd tube											
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Range	6,0 to 11,0	6,0 to 9,0	7,0 to 12,0	6,0 to 12,0	90,0 to 420,0	120,0 to 360,0	50,0 to 190,0	50,0 to 170,0	26,0 to 58,0	33,0 to 54,0	5,0 to 13,0	5,0 to 14,0	50,0 to 100,0	50,0 to 95,0
Mean	7,8	7.1	9,3	8,4	244,8	236,4	106,0	104,0	41.8	44,9	8,8	8,4	77,2	79,8
Standard deviation	1,1	1,1	1,4	1,2	73,3	64,8	37,3	29,0	6,6	5,0	2,1	2,9	14,4	12,6
Median	8,0	7,0	9,0	8,0	240,0	240,0	100,0	110,0	42,0	46,0	9,0	8,0	80,0	80,0
Pearson's coefficient of variability (%)	14,3	15,4	15,6	14,2	29,9	27,4	37,3	27,8	15,8	11,2	23,8	34,5	18,7	15,7
95% confidence interval for mean	7,3 to 8,2	6,6 to 7,5	8,6 to 9,9	7,8 to 8,9	213,8 to 275,7	209,0 to 263,7	90,2 to 121,7	91,7 to 116,2	38,9 to 43,4	42,7 to 47,0	7,9 to 9,6	7,1 to 9,6	71,1 to 83,2	74,4 to 85,1

TABLE II — SUMMARIZED DATA OBTAINED FOR THOROUGHBRED HORSES, ACCORDING TO SEX, IN RELATION TO THE THROMBOPLASTIN GENERATION TEST AND THE MEASURES OF POSITION AND VARIABILITY

Tests / Measures	THROMBOPLASTIN GENERATION									
	Systems with cephalin					Systems with platelets				
	Maximum generation (min.)		Maximum activity			Maximum generation (min.)		Maximum activity		
			In clotting time (sec.)		In concentration (%)			In clotting time (sec.)		In concentration (%)
	M	F	M	F		M	F	M	F	
Range	2,0 to 5,0	2,0 to 5,0	14,0 to 37,0	12,5 to 34,0	45,0 to 131,0	2,0 to 5,0	2,0 to 5,0	18,0 to 55,0	20,5 to 60,0	53,0 to 185,5
Mean	3,3	3,0	18,1	18,0	107,2	3,3	3,5	35,0	36,7	101,0
Standard deviation	1,0	0,9	6,7	5,5	20,5	0,7	0,9	9,7	11,2	31,7
Median	3,0	3,0	16,0	17,0	110,0	3,0	3,0	35,5	38,7	96,2
Pearson's coefficient of variability (%)	31,2	30,3	37,9	30,4	19,1	23,3	28,2	27,8	30,5	31,4
95% confidence interval for mean	2,6 to 3,9	2,4 to 3,5	13,8 to 22,3	14,6 to 21,5	98,7 to 115,7	2,7 to 3,8	2,8 to 4,1	28,5 to 41,5	29,2 to 44,2	87,3 to 114,7

M = male
F = female

TABLE III — SUMMARIZED DATA OBTAINED FOR THOROUGHBRED HORSES IN RELATION TO THE TESTS PERFORMED AND THE CALCULATED MEASURES OF POSITION AND VARIABILITY

Tests / Measures	Clotting time (minutes)		Clotting time of recalcified plasma (sec.)	Platelet ($10^3/mm^3$)	Clot retraction (%)	Prothrombin time concentration		Prothrombin consumption (%)	Thromboplastin generation					
									Cephalin			Platelets		
	1st tube	2nd tube				(sec.)	(%)		Max. gener. min.	Max. activ. in C.T. (sec.)	Max. activ. in concent. (%)	Max. gener. min.	Max. activ. in C.T. (sec.)	Max. activ. in concent. (%)
Range	6	6	90	50	26	5	50	50	2	12,5	45	2	18	53
	to		to	to	to	to	to	to	to	to	to	to	to	to
	11	12	420	190	58	14	290	100	5	37,0	131	5	60	185
Mean	7,5	8,9	240,6	105,0	43,3	8,6	120,5	78,5	3,1	18,0	107,2	3,4	35,9	101,0
Standard deviation	1,1	1,4	69,2	33,0	6,0	2,5	58,0	13,5	0,9	6,0	20,5	0,8	10,3	31,7
Median	7,0	9,0	240,0	100,0	43,0	8,0	120,0	80,0	3,0	17,0	110,0	3,0	34,5	96,2
Pearson's coefficient of variability (%)	15,2	16,0	28,5	31,5	13,9	29,5	48,1	17,2	30,9	33,4	19,1	25,8	28,7	31,4
	7,1	8,5	221,4	95,9	41,7	7,9	104,4	74,7	2,7	15,6	98,7	3,0	31,4	87,3
95% confidence interval for mean	to	to	to		to	to	to	to	to	to	to	to	to	to
	7,8	9,2	259,7	114,1	45,0	9,3	136,5	82,2	3,5	20,5	115,7	3,7	40,3	114,7

Results

The average values, the standard deviation, the median, Pearson's coefficient of variability, as well as the estimations of the confidence interval of 95% for the average was calculated for male and female horses, in the different tests performed. These same values were calculated, according to the grouped data of male and female horses.

In table I, we can find the results obtained in the tests of coagulation time, coagulation time of recalcified plasma, platelet count, clot retraction, prothrombin time and prothrombin consumption for male and female horses. In table II, there are the results of the tests of thromboplastin generation, concerning the minute when the maximum generation occurred and the maximum activity was observed in male and female horses, expressed by the time it took to coagulate the plasma of the animal. poor in platelets plus calcium.

The results obtained in all the tests performed, calculated according to the grouped data of male and female horses, are summarized on table III, while on table IV, we have the summary of the values found in the literature for normal equines, according to the different authors, including our discoveries.

Graph IV and V illustrate the distribution of frequency of the P.S.I. equines in function of the time in which the thromboplastin generation in systems with platelets and phospholipids, respectively, was maximum.

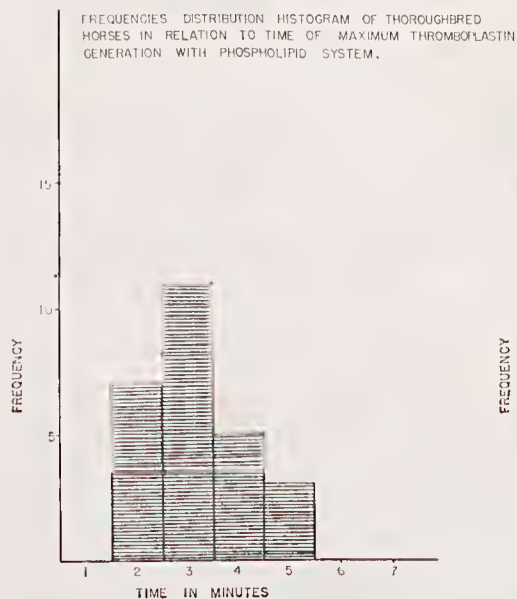
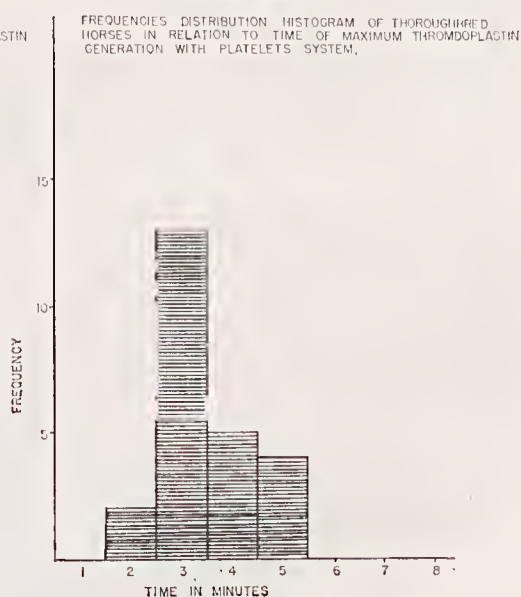



TABLE IV — SUMMARY OF VALUES IN FORMER PUBLICATIONS ON NORMAL HORSES, AND CLASSIFIED HERE ACCORDING TO THE TESTS PERFORMED BY THE AUTHORS, COMPARED TO OUR RESULTS

Tests / Authors	Clotting time (min.)	Clotting time of recalcif. plasma (sec.)	Platelets (10^3/mm³)	Clot retraction (%)	Prothrombin time time concentraction (sec.)	Prothrombin time time concentraction (%)	Prothrombin consumption (%)	Thromboplastin generation Max. gener. min.	Thromboplastin generation Max. activ. (sec.)	Thromboplastin generation Max. activ. concent. (%)
Adams (1)	10,47 a 16,25	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Archer (4)	6,5-9,0 a	—	90-170 a	45-60 a	11-15 a	—	—	4-5 a	11 a	—
Araujo (3)	—	—	—	—	13	—	—	—	—	—
Awad & Morcos (5)	3,12-4,47	—	—	—	—	—	—	—	—	3-12 b
Barkhan & col. (7)	—	—	134 a	—	10,5 a 21,0 a 10,4 20,0	—	—	—	—	—
Bell & col. (12)	20-32	—	255	3-16	—	14-16 b	—	4-5	±30	—
Burker (16)	11,5 d	—	132-276	—	—	—	—	—	—	—
Buruiana & col. (18)	15-30	—	—	—	23,8	—	—	—	—	—
De Nicola & col. (22)	—	±130 e ±180	—	—	9,5 e 10,5	—	—	—	—	—

Diaz (23)	—	—	—	—	8,6 a 8,5	—	—	—	—	—
Doroschkin (24)	—	—	—	—	17,7	—	—	—	—	—
Florio & col. (28)	—	—	—	—	12,5 a 17,1	—	—	—	—	—
Hickmet (30)	—	—	350	—	—	—	—	—	—	—
Kment (34)	—	—	—	—	26,6	—	—	—	—	—
Pinkiewicz (38)	—	—	—	—	13	—	—	—	—	—
Quick (42)	—	—	—	—	—	40 % c	—	—	—	—
Rebernack (45)	—	—	250-560	—	—	—	—	—	—	—
Schwayer (50)	54 d	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sippel (51)	12 d	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sopeña (54)	—	—	305-384	—	—	—	—	—	—	—
Van Wassenhove (58)	—	—	—	—	40-50	—	—	—	—	—
Villard (59)	2-3 d	—	—	—	9-10	—	—	—	—	—
Wirth (62)	—	—	350	—	—	—	—	—	—	—
Oúr results	—	—	360	—	—	—	—	—	—	—
(means)	7,5 a	240,6 a	105 a	43,3 a	8,6 a	120,5 a	78,5 a	3,1 a 3,4 a	18 a 35,9 a	107,2 a 101,0 a

a — Thoroughbred horse b — Related to human c — Related to rabbit d — At 25ºC or less e — Young animal

Discussion

Analysing the coagulation phenomenon in horses we find a series of controversial aspects both in relation to the thromboplastic factors and to the prothrombinic complex. On the other side, hemorrhagic diseases have been appointed even though the real cause for these disturbances are still unknown.

It seems to us that the greatest difficulties in the characterization of hemorrhagic syndromes in horses, are due to the fact that in the concerning literature there is not a basic work, where the different tests applied in the diagnosis of the errors of coagulation, are perfectly padronized for this kind of animal and which results can be safely used as comparative standards.

The analysis of the consulted works either aimed at the determination of averages for horses or as comparative studies between horses and other species, showed that they cannot, in many cases, be taken as reference, because they have not taken into consideration important factors for the perfect characterization of the animals, such as race, etarium factor, moment of collection in relation to feeding, size, etc. The importance of these factors in the final results of the tests can be verified by the works of Adams (1), Awad and Morcos (5), De Nicola et al. (22), Diaz (23), Florio et al. (28), Kment (34) and Villard (59).

It can be noticed that there is an oscillation in the results when diverse techniques or variations of the same technique were used, however, even within the same technique, work conditions such as temperature, cause great errors, fact that can be easily understood if one remembers that blood coagulation is an enzimatic process in many aspects. Works by Adams (1), Burker (16). Schwayer (50), Sippel (51) and Villard (59) perfectly demonstrate this fact.

Baserga and De Nicola (12) verified that it occurs modification in blood coagulation after the injection of sexual hormones or after spontaneous modifications of the hormonal equilibrium, while Rosenfeld and Nahas (47) concluded that the prothrombinic complex does not suffer any influence either by the benzoate or the hexahydrobenzoate of estradiol or by the hexahidrobenzoate of tesosterona. De Nicola (22) found variation in number and lessening of platelet thromboplastinic activity while menstrutions took place and this has been confirmed by Introzzi and De Nicola (32). These verifications took us to look for eventual differences caused by the sex in the results of the different test made.

Considering mentioned points such as the fact that we have been working on Thoroughbred Horses, that a definite direction has been followed in selecting the animals and applying the techniques, it seems to us that the results should be as exact as possible and this will make their indication possible, as standards for a definite population within the limits of the used pattern.

Examining the obtained results we find that in all tests the dependence intervals of 95% for the average populational values estimated for male and female horses, always show a variation zone which indicates that the differences between sex is not significant at the adopted rejection level of 5%, confirming Archer's (4) suggestion. That fact allowed us to aggregate the obtained results for male and female horses in each test, and estimate the dependence limits of 95% of the average populational values.

In relation to the authors who worked on Thoroughbred Horses, our results, for the test of blood coagulation time, are numerically inferior to Adams's (1) who used the same technique with slight modifications and coincide with Archer's (4) when analysing them in function of the value obtained for the first tube.

As for the people who worked with other races or no definite race, we mention Bell et al. (12) and Fantl and Marr (25) who got values much higher than ours using the same technique, though with few and heterogeneous samples. Burker (16) and Villard (59) respectively found higher and lower values than ours, but working at the temperature of 25°C. The results of Schwayer (50) and other authors mentioned by him, Sippel (51) and Awad and Morcos (5) cannot be compared to ours due to the different applied techniques.

The differences that we have found between the results in the first and the second test tube show that there is a technical problem. The realization of the test demands two or three test tubes, but it was never established which test tubes indicates the result; based on experimental facts, our results define that it should be the first one, because the time is shorter and the variability of the results is lower. The second test tube should be observed only as a control tube in order to avoid occasional mistakes of great range.

The test of "Coagulation time of recalcified plasma" apparently has not yet been done in Thoroughbred Horses. Results obtained by De Nicola (22) with few samples, in common old and young horses, were lower than ours, respectively in 60 and 110 seconds.

The method of Feissly and Ludin (27) has not yet been used for platelet counts in horses's blood. It is very difficult to critically analyse the results of this test which presents the higher variation according to the technique used. Just as an illustration we've noticed found that our results were a little under the ones finded by Barkhan et al. (7) and Archer (4), who made determinations in Thoroughbred Horses using methods of direct counts. Hickmet (30), Rebernack (45), Sopeña (54), Wirth (62), Wober (63) using Kocher-Fonio's technique, Behrens (9) using Neumann and Monreal's technique and Weiser (61) obtained values markedly higher than ours.

The percentage of clot retraction that we registered is slightly lower than Archer's (4) who utilized McFarlane's technique though with very few samples.

Our prothrombin times are only comparable to the ones by authors who used thromboplastin of rabbit's cerebrum (brain) for this is the most active one; even thromboplastin of horses cerebrum's acting in homologous systems, is less active as it has been demonstrated by Diaz (23). As already known, other thromboplastins are notably less active (7). The results given by us, in seconds, do not differ from the ones obtained by Diaz (23) in Thoroughbred Horses, at rest, utilizing thromboplastin of rabbit's cerebrum; the averages of 8.6 seconds are identical. We should yet consider that both samples were equivalent as to the number of animals, for that author worked with 60 animals. Barkhan et al. (7) and Archer (4) obtained higher results applying however, thromboplastin of horses's cerebrum. Comparing with results obtained in horses of different races, our prothrombin times are lower than Araujo's (3) and Kment (34) with thromboplastin of rabbit's cerebrum, Van Wassenhove's (58) with thromboplastin of bovine's lung. Villard (59) with thromboplastin plus calcium "Biolyon", Doroschkin's (24) with human thromboplastin and Pinkiewicz (38) with thromboplastin "Roche". The percentual values are not comparable since they vary in function of the standard considered as 100%.

The results of the test of usage of prothrombin indicate that over 75% of the plasmatic prothrombin is consumed 60 minutes after the beginning of the coagulation process and we could not find literature on the subject to compare with.

The thromboplastin generation test will be considered under two aspects:

First with respect to the time necessary to happen the maximum generation. Examining the tables and graphs IV and V we verify that for male and female horses, either applying platelets suspensions of the animal itself or phospholipids of human cerebrum, the systems show maximum activity always between the second and fifth minutes. In the systems with platelets suspension, the average was 3.4 minutes and for system with phospholipids 3.1 minutes. This results acquiece with Archer's (4) verifications, who utilizing phospholipids of horses, found the maximum generation between the fourth and fifth minute. The application of phospholipids of human and not horses's cerebrum is completely explained in Barkhan et al. (7) demonstration, by which, both the lipidic fraction of human or horses cerebrum may substitute the platelets suspension as a source of platelet thromboplastinic factors, with no specificity of species.

The fact that the maximum generation always occurs between the second and the fifth minutes makes possible our advice that the test should be done within this time interval, sufficient to orientate a clinic interpretation, greatly simplifying its realization.

The second aspect to be considered is the verification of the thromboplastinic activity at the moment of its maximum generation, value which is expressed by the coagulation time of the oxalated plasm poor of platelets. One can easily realize, by analysing the results, that though the minute in which the maximum

generation occurs, is the same for either systems with platelets or phospholipids, the thromboplastinic activity is greater in the last case, fact which has been verified in a general way by Bell and Alton (10) and might also confirmate Fantl and Marr's (25) conclusions. However, from these consideration, we cannot get conclusions also because the experiments were not done in a way to permit comparisons of the different methods. The thromboplastin activity in its maximum generation in systems with human phospholipids, appointed as average, is a little higher than the value for an animal found by Archer (4). Percentual comparison is not possible because it had to be done in function of the concentration curve which depends on the standard considered as 100%.

There was not care taken in evidenciating sex differences when results were changed into percentage, for this analysis was done though values expressed as time unity. As no meaningful differences were found, both male and female horses were used to determine the curve of thromboplastin dilution. Same points were taken into consideration for prothrombin time.

Summary

The most usual test were carried out to the evaluation of the phenomeno of blood coagulation in Thoroughbred Horses 25 males and 25 females, with ages between 2 and 5. No significant differences were found between sexes in the results of different tests at the rejection level of 5%. The average values found according to the pooled data of males and females were: coagulation time: first tube: 7.5 minutes ± 1.1; second tube: 8.9 minutes ± 1.4; coagulation time of recalcified plasma: 240.6 seconds ± 69.2; platelets: 105,000/mm^3 ± 33.000; prothrombin time: a) 8.6 seconds ± 2.5; b) 120.5% ± 58.0; prothrombin consumption: 78.5 ± 13.5; thromboplastin generation: A) System with human brain extract: a) maxima generation minute: 3.1 ± 0.9; b) maxima activity in coagulation time of substract plasma: 18.0 seconds ± 6.0; c) activity of maxima concentration: 107.2% ± 20.5; B) System with platelets of the animal itself: a) maxima generation minute: 3.4 ± 0.8; b) activity in coagulation time of substract plasma: 35.9 seconds ± 10.3; c) activity of maxima concentration: 101.0% ± 31.7.

The result of blood coagulation time to be considered when the Lee and White technique is employed using two tubes, should be the one obtained with the first tube, because the time is shorter and the variability of results smaller and the second tube ought to be observed only as a witness, to avoid random errors of grate range.

Acknowledgment — We thank Dr. Gastão Rosenfeld of the Department of Physiopathology of Instituto Butantan for his orientation in doing this work, to Dr. Fernando P. Lima, Veterinarian of the Jockey Club of São Paulo, Institution from which we obtained the material for the experiments and to everyone who directly or indirectly helped us.

Bibliography

1. *Adams, J. L.* — Observaciones sobre coagulación sanguinea del caballo. *Zooiatria*, 2(7):16, 1953.
2. *Aparici, C.* — Cit. *Sarda, J. M.* — *Elementos de fisiologia*, 6ª ed., v. I. Barcelona, Editorial Cientifico-Médica, 1952. p. 376.
3. *Araujo, P.* — Tempo de protrombina em cavalos no curso de imunização. *An. Inst. Pinheiros*, 6(11):1, 1943.
4. *Archer, R. K.* — The normal haemograms and coagulograms of the English Thoroughbred horse. *J. Comp. Path.*, 69(4):390, 1959.
5. *Awad, Y. L.* — *Morcos, M. B.* — Coagulation time of horses blood in Egypt. *Brit. Vet. J.*, 116(3):115, 1960.
6. *Barkhan, P.* — Cit. *Sjolin, K. E.* (52).
7. *Barkhan, P.* — *Tomlin, S. C.* — *Archer, R. K.* — Comparative coagulation studies on horses and human blood. *J. Comp. Path.*, 67(4):358, 1957.
8. *Baserga, A.* — *De Nicola, P.* — 1952 — Cit. *De Nicola, P.* — *Cappelletti, G.* — *Sartori, S.* (22).
9. *Behrens, H.* — Zählung der Thrombozyten bein Pferd mit Hilfe der Methode nach Neumann und Monreal. *Berl. Munch. Tierärztl. Wschr.*, (4):75, 1951.
10. *Bell, W. N.* — *Alton, H. G.* — A brain extract as a substitut for platelet suspensions in the thromboplastin generation test. *Nature*, Lond., 174 (4436):880, 1954.
11. *Bell, W. N.* — *Archer, R. K.* — *Tomlin, S. C.* — Coagulation mechanism of the horse. *Nature*, Lond., 175(4457):596, 1955.
12. *Bell, W. N.* — *Tomlin, S. C.* — *Archer, R. K.* — The coagulation mechanism of the blood of the horse with particular reference to its "haemop hiliod" status. *J. Comp. Path.*, 65(3):255, 1955.
13. *Biggers, J. D.* — *Ingram, P. L.* — Studies on equine purpura haemorrhagica. Article n.º 4. *Haematology Brit. Vet. J.*, 105(6):191, 1949.
14. *Biggs, R.* — *Douglas, A. S.* — The thromboplastin generation test. *J. Clin. Path.*, 6(1):23, 1953.
15. *Biggs, R.* — *Mc Farlane, R. G.* — Human blood coagulation and its disorders. 2nd ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1957. p. 388.
16. *Burker, R.* — Über Gesetzmassigkeiten Die Roten Blutkorperchen und Die Blutgernnung Betreffend. *Arch. Sci. Biologiche*, 27:101, 1941.
17. *Burstein, M.* — *Guinand, A.* — Sur la spécificité du fibrinogène des mammifères. 1 — Temps de thrombine du plasma de quelques mammifères. Rôle du pH et du calcium. *Rev. Hem.*, 9(2):231, 1954.
18. *Buruiana, L. M.* — *Rauchbach, H.* — Die Prothrombinamie und ihre Bestimmung bei Mensh und Tieren. *Mh. Vet. Med.*, 11(4):83, 1956.
19. *Chapron, H.* — Hémophilie après castration chez le cheval. *Rec. Méd. Vét.*, 103(21):879, 1927.
20. *Chapron, H.* — Contrihuition à l'étude de l'hémophilie de castration chez le cheval. *Rec. Méd. Vét.*, 117(6):181, 1941.
21. *De Nicola, P.* — *Cappelletti, G.* — *Sartori, S.* — Studio comparativo dei reperti tromboelastografici ed emocoagulativi nell'uomo e in varie specie animali. Rapporti con i problemi della fisiopatologia. *Haematologica*, 42 (3):179, 1957.
22. *De Nicola, P.* — Thromboplastic factors of platelets; quantitative and physiopathologic evaluation. *Rev. Hemat.*, 9(1):536, 1954.
23. *Diaz, P. U.* — La protrombinemia normal del equino. *Rev. Soc. Med. Vet.*, Chile, 4(6):4, 1953.
24. *Doroschkin, I. L.* — Vergleichende prothrombizeit bestimmungen bei haustieren. *Inaugural Dissertation*. München, 1955.
25. *Fantl, P.* — *Marr, A. G.* — The coagulation of horse blood. *J. Physiol.*, 142 (2):197, 1958.

26. *Fantl, P. — Ward, H. A.* — The thromboplastic component of intact blood platelets is present in masked form. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.*, 36(5): 499, 1958.

27. *Feissly, R. — Ludin, H.* — Microscopie par contrastes de phases. III. Applications à l'hématologie. *Rev. Hém.*, 4:481, 1949.

28. *Florio, R. — Cottereau, Ph. — Marie, C. — Marie, F.* — Sur le "temps de Quick" normal de quelques animaux domestiques. *Bull. Soc. Sci. Vet.*, Lyon, 61(3):129, 1959.

29. *Grecchi, R. — Martins, L. F. — Rosenfeld, G.* — Geração de tromboplastina em cavalos normais. *Ciência e Cultura*, 13(3):201, 1961.

30. *Hickmet, P.* — 1926 — Cit. *Behrens, H.* (9).

31. *Homutov, P.* — Recherches sur la pathologie, la physiologie pathologique et le traitement de l'anemie infectieuse du cheval. *Bull. Off. int. Epiz.*, 13 (1-2):1, 1936.

32. *Introzzi, P. J. — De Nicola, P.* — Investigaciones sobre la fisiopatologia de las plaquetas. *Scientia Médica Itália*, 4(4):664, 1956.

33. *Janiak, A. — Janiak, T. — Koprowsky, J.* — Disturbances in coagulation in equine infectious anaemia. *Weterinaria Wroclaw.*, 5:47, 1959.

34. *Kment, A.* — Beitrag zur "Plasmagerinnungszeit" der Haustiere. *Wien. Tierarztl. Mschr.*, 37(7):461, 1950.

35. *Lee, R. I. — White, P. D.* — A clinical study of the coagulation time of blood. *Amer. J. Med. Sci.*, 145(4):495, 1913.

36. *McFarlane, Norman* — 1954 — Cit. *Awad, Y. L. — Morcos, M. B.* (5).

37. *Miller, W. C.* — 1954 — Cit. *Bell, W. N. — Tomlin, S. C. — Archer, R. K.* (5).

38. *Pinkiewicz, E.* — Die Blutgerinnungsfaktoren der I Phase bei gesunden und Kranken Pferden. *Wien. tierarztl. Mschr.*, 48(10):791, 1961.

39. *Quick, A. J.* — The prothrombin in hemophilia and in obstructive jaundice. *J. Biol. Chem.*, 109:ixxiii, 1935.

40. *Quick, A. J.* — Qualitative differences in the prothrombin, thromboplastin and thrombin of different species. *J. Biol. Chem.*, 123:XCIX, 1938.

41. *Quick, A. J.* — The thromboplastin reagent for the determination of prothrombin. *Science*, 92(2379):113, 1940.

42. *Quick, A. J.* — The prothrombin concentration in the blood of various species. *Amer. J. Physiol.*, 132(1):239, 1941.

43. *Quick, A. J.* — Studies on the enigma of the hemostatic dysfunction of hemophilia. *Amer. J. Med. Sci.*, 214(3):272, 1947.

44. *Quick, A. J.* — *Hemorrhagic Diseases.* Philadelphia, Lea & Febiger, 1957.

45. *Rebernack* — Cit. *Behrens, H.* (9).

46. *Rosenfeld, G.* — Retração do coágulo sanguíneo. *Rev. Clin. S. Paulo*, 10(2): 43, 1941.

47. *Rosenfeld, G. — Nahas, L.* — Absence of activity of estrogen and hormones on the prothrombin complex of dogs treated with dicoumarol. *Acta Physiol. Latino-Americana*, 11(3):135, 1961.

48. *Rosenfeld, G.* — Problemas do diagnóstico diferencial nas Síndromes Hemorrágicas. *J. Bras. Med.*, 7:695, 1963.

49. *Rossignol* — 1886 — Cit. *Chapron, H.* (20).

50. *Schwayer, E.* — Die Blutgerinnungswerte (nach Fonio) des normalen Pferdeblutes. *Folia Haemat.*, 52(3):264, 1934.

51. *Sippel, W. L.* — Blood coagulation time. *Vet. Med.*, 53(11):622, 1958.

52. *Sjolin, K. E.* — Lack of Christmas factor in horse plasma. *Nature, Lond.*, 178 (4525):153, 1956.

53. *Sjolin, K. E.* — Coagulation defect in horse plasma. *Proc. Soc. exp. Biol.*, N.Y., 91(4):818, 1957.

54. *Sopeña, I.* — Determinación del número normal de plaquetas sanguineas en algunas especies domésticas. *Rev. Fac. Agron. B. Aires*, 9(1):7, 1941.

55. *Soulier, J. P. — Larrieu, M. J.* — Measurement of thromboplastic factors and profactors in plasma. I. Deficits in thromboplastin. Study of reagents. Measurements of antihemophilic and of platelet activities. *J. Lab. Clin. Med.*, **41**(6):849, 1953.

56. *Spanoudis, S. — Eichbaum, F. — Rosenfeld, G.* — Inhibition of the local Schwartzman reaction by dicumarol. *J. Immunol.*, **75**(3):167, 1955.

57. *Stormorken, H.* — Species differences of clotting factors in ox, dog, horse and man. Thrombin and fibrinogen. *Acta Physiol. scand.*, **40**(2-3):167, 1957.

58. *Van Wassenhove, A.* — Bloedonderzoek bij het Belgisch trekpaard. *Vlaam. diergeneesk Tijdschr.*, **18**(1):1, 1949.

59. *Villard, J.* — Contribuition à l'étude des méthodes de mesure de la coagulation sanguine chez le cheval et en particulier de la méthode de Quick. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire. Fac. Med. Paris, 1956.

60. *Volkmar, F.* — 1930 — Cit. *Wirth, D.* — Sammelreferat Veterinarmedizin 1930. *Folia Haemat.*, **46**(3):325, 1932.

61. *Weiser, R.* — 1922 — Cit. *Bell, W. N. — Tomlin, S. C. — Archer, R. K.* (12).

62. *Wirth, D.* — Cit. *Behrens, H.* (9).

63. *Wöber, F.* — 1926 — Cit. *Behrens, H.* (9).

64. *Zschokke, E.* — L'hémophilie du cheval. *Rec. Med. Vét.*, **81**(23):781, 1904.

THROMBOPLASTIN GENERATION TEST IN NORMAL HORSES AND HORSES INJECTED WITH TETANIC TOXIN *

L. F. MARTINS **, R. GRECCHI *** and G. ROSENFELD ****
Laboratory of Hematology, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

It seems that Zimmermann (15) was the first author to call the attention to a possible slowness of the process of blood coagulation in the horse. From then onward, several researchers demonstrated differences in the phenomenon in the equine species when compared to the human species, although Soulier and Larrieu (14) declared that the concentration of coagulation factors are similar in the two species.

The greatest difficulties are found in the factors that enter in the formation of thromboplastin. Bell et col. (2, 3) believe that there is deficiency of anti-hemophilic factor in the horse plasma, which was confirmed by Barkhan et col. (1). On the other hand Sjolin (12) first admitted deficiency of the Christmas factor but later on (13) he thought of a probable insuficiency of a factor similar or identical to the Hageman factor.

Fantl e Marr (7) found a significant quantitative difference between the thromboplastinic factors of horse and human blood, although their activities were similar. Fantl and Ward (8) also observed a low activity in the thromboplastic component of the horse platelets.

Therefore, we thought it would be useful to make a comparative analysis of the activity of the thromboplastinic factors, expressed by the thromboplastin generation test in equine and human plasma. Another investigation was about an eventual difference in the generating activity of thromboplastin among normal animals and injected with tetanic toxin, and also whether there is an optimum time in the thromboplastin generation test.

---

* This work was supported with a grant from the Research Fund of the Instituto Butantan (FPIB).

** Department of Histology and Embriology, School of Veterinary Medicin, University of São Paulo.

*** Department of Pathological Anatomy, School of Veterinary Medicin, University of São Paulo.

**** Head of the Department of Physiopathology, Instituto Butantan.

Received for publication in July 29, 1964.

Material and methods

20 normal equines were used, 14 male castrated horses and 6 female, and 10 male horses, also castrated, which had been used for the production of anti-tetanic serum. The age of the animals was between 10 to 20 years, all belonging to Instituto Butantan, and they were submitted to one same diet. The blood was collected with 10% of 0.1 M sodium oxalate from the jugular vein, while the animals were resting and a siliconized syringe was used. The plasma was obtained by centrifugation of blood for 10 minutes at 2.500 r.p.m.

The thromboplastin generation test was performed according to the method of Biggs and Douglas (1) using a platelet suspension of the own animal as a source of platelet-thromboplastinic factors. The citrated plasma of the original technique was substituted by the oxalated plasma absorbed by barium sulphate, washed according to the technique described by Biggs and Macfarlane (5) used in a proportion of 0.1 g of the salt for 1 ml of plasma. The absorption was made at 37°C for 30 minutes, shaking the tubes once in a while. Afterwards, they were centrifuged at 2.500 r.p.m. for 10 minutes; the supernatant was removed and diluted 1:5 to be used.

The platelets for the suspension were obtained from blood collected in 10% of a 3.8% saline diluted sodium citrate. They were washed three times in saline, finally suspended in the same solution according to a concentration about 3 times the one of the plasma.

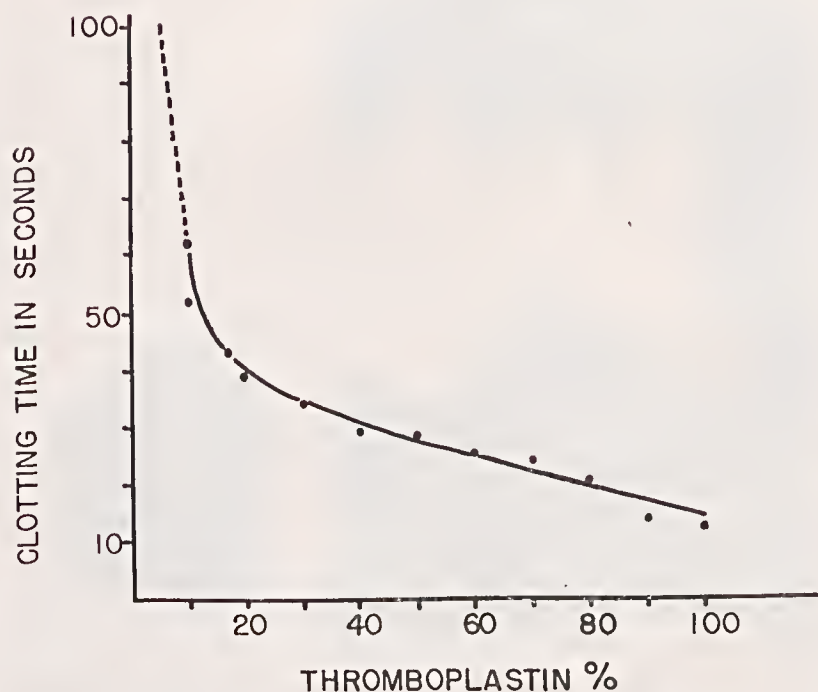
The test lasted 8 minutes for the normal animals and 5 for the animals injected with tetanic toxin. In the first case the readings were performed every minute, during the 8 minutes, and in the second case, from the second to the fifth minute. Two generation tests were done for each animal.

For transformation of data in concentration a thromboplastin dilution curve obtained with human plasma was used (figure 1). The values obtained in the two experiments, were transformed in concentration and the average, which represented the results for each animal, was calculated.

The human values, used as comparison, consisted of the results obtained in the Department of Physiopathology of the Instituto Butantan, with 10 individuals, both male and female and of different ages, using their own platelets with a similar technique and analysed according to the same dilution curve.

The level of rejection adopted for a statistical comparative analysis of the groups was 5%.

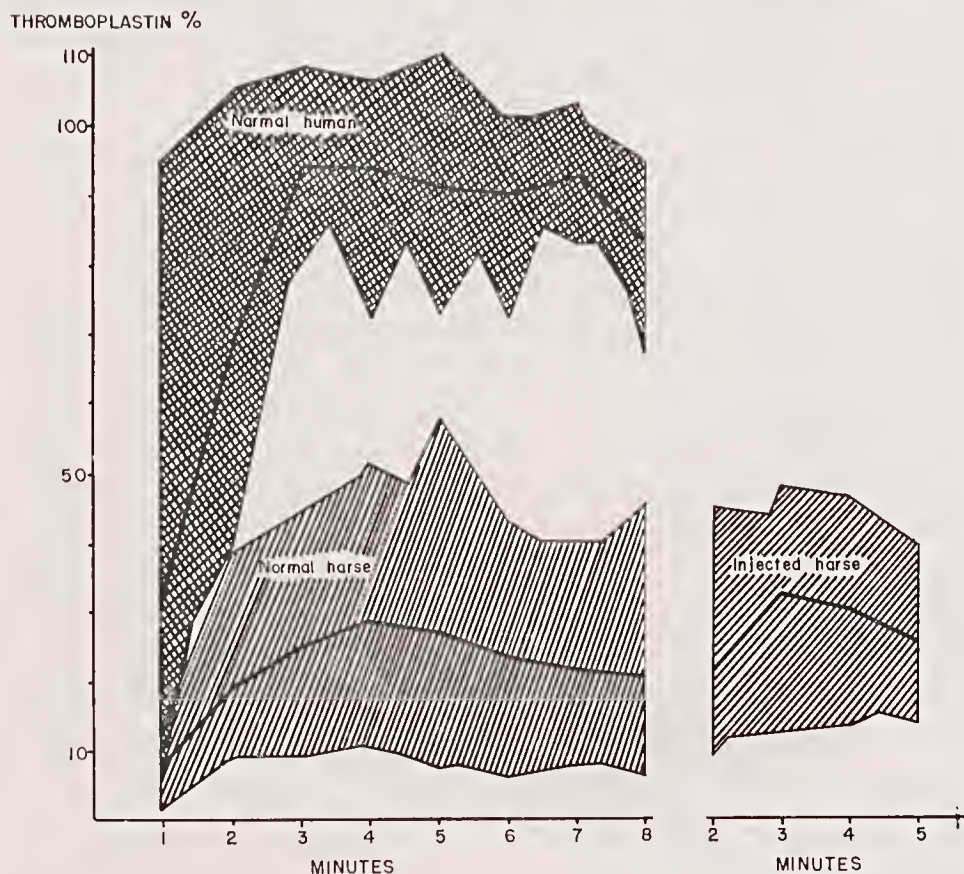
FIGURE I

REFERENCE FIGURE OF HUMAN THROMBOPLASTINIC ACTIVITY WITH PLATELETS SYSTEM IN RELATION TO TIME IN SECONDS AND PERCENTAGE OF CONCENTRATION.

Results

The results obtained, are summarized in table I. This table shows the mean values, standard deviation, median, Pearson's coefficient of variability and the estimations of 95% confidence intervals for the average, of the minute in which the maximum thromboplastin generation and also the maximum activity of the generated thromboplastin occurred. It was revealed by the clotting time of the substrate plasma by the action of calcium chloride and of the system in that same minute.

Figure 2 illustrates the distribution of frequencies for each tested group, showing also the mean curves of thromboplastin generation.

FIGURE II

FREQUENCY DISTRIBUTION OF T.G.T. CURVES OF NORMAL HUMAN PLASMA, NORMAL HORSE PLASMA AND PLASMA OF HORSES INJECTED WITH TETANIC TOXIN.

Discussion

It was already demonstrated that the coagulation system of the equines shows differences from that of the man, in what regards several different factors (6, 9, 11). However, more attention was given to the thromboplastinic factors, because it is in relation to them that most opinions differ. While some (1, 2, 3) admit that there is deficiency of anti-hemophilic globulin in horse plasma, when it is compared to that of man, others admit deficiency of Christmas (12) or even Hageman (13) factor. What really seems to exist is a quantitative difference of factors in the two species (7) and not a qualitative one. Anyway, when both species are compared, a smaller activity of the thromboplastin generation system of the blood of equines seems to be evident, when measured altogether.

TABLE I — SUMMARY OF THE RESULTS OBTAINED IN THROMBOPLASTIN GENERATION TEST FOR MAN, NORMAL HORSES, AND INJECTED WITH TETANIC TOXIN, CLASSIFIED ACCORDING TO THE TESTS PERFORMED AND OF THE MEASURES OF POSITION AND CALCULATED VARIABILITIES

	Minute of maximum generation			Maximum activity in % of clotting time		
	Human	Normal horse	Injected horse	Human	Normal horse	Injected horse
Average	3,6	3,4	3,2	99,2	31,7	37,2
Standard deviation	0,69	1,01	0,92	6,3	14,92	10,5
Median	3,5	3,5	3,0	99,0	33,5	42,7
Pearson's coef. of variab. %	19,16	29,24	28,75	6,44	47,06	28,44
95% confidence interval for average	3,07 to 4,12	2,96 to 3,93	2,51 to 3,89	94,38 to 104,01	24,54 to 38,86	29,23 to 45,17

The analysis of our results shows a wide line of transvariation with the intervals of confidence calculated for the minute in which the greatest thromboplastin activity is developed in relation to the human plasma, normal equine plasma and plasma of horses injected with the tetanic toxine, thus demonstrating that there is no significant difference for the level of rejection adopted. Therefore, we can conclude that the time which is necessary for this activity to develop is the same for the man and horse, between the third and fourth minute, as was observed by Martins (10).

In relation to the maximum activity of the generated thromboplastin, the same transvariation is verified between the normal horses, and the ones injected with tetanic toxin, however the confidence interval for these two groups of animals is quite different from the one found for man, permitting us to assume that the activity of the equine thromboplastin is much smaller than that of the man (figure 2).

Therefore it is not necessary to make determinations before the second and after the fifth minute, in the thromboplastin generation test of Biggs and Douglas.

Summary

Normal horses have a smaller amount of thromboplastin than normal humans when measured by the thromboplastin generation test with the method of Biggs and Douglas.

Horses injected with tetanic toxin for the preparation of hyperimmune serum have the same thromboplastin activity as the normal animals.

The maximum thromboplastin generation is observed at the third or fourth minute with the method of Biggs and Douglas, in normal horses and in horses injected with tetanic toxin, and are the same times observed in normal humans.

Resumo

Cavalos normais têm menor quantidade de tromboplastina do que o homem normal quando medida pelo teste de geração de tromboplastina, método de Biggs e Douglas.

Cavalos injetados com toxina tetânica para preparação de sôro hiperimune, têm a mesma atividade tromboplastínica que os animais normais.

O máximo de geração de tromboplastina é observado no terceiro ou quarto minuto com o método de Biggs e Douglas, tanto nos cavalos normais como nos injetados com toxina tetânica e êste tempo é o mesmo que o observado no homem normal.

References

1. *Barkhan, P., Tomlin, S. C.* and *Archer, R. K.* — Comparative coagulation studies on horse and human blood. *J. Comp. Path.*, 67:358, 1957.

2. *Bell, W. N., Archer, R. K.* and *Tomlin, S. C.* — Coagulation mechanism of the horse. *Nature* 175(4457):596, 1955.

3. *Bell, W. N., Tomlin, S. C.* and *Archer, R. K.* — The coagulation mechanism of the blood of horse with particular reference its "haemophilioid" status. *J. Comp. Path.*, 65:255, 1955.

4. *Biggs, R.* and *Douglas, A. S.* — The thromboplastin generation test. *J. Clin. Path.*, 6:23, 1953.

5. *Biggs, R.* and *MacFarlane, R. G.* — *Human blood coagulation and its disorders.* 2nd ed., Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1957, 388.

6. *Burstein, M.* and *Guinand, A.* — Sur la specificité du fibrinogène des mammifères. I — Temps de thrombine du plasma de quelques mammifères. Rôle du pH et du calcium. *Rev. Hemat.*, 9:231, 1954.

7. *Fantl, P.* and *Marr, A. G.* — The coagulation of the horse blood. *J. Physiol.*, 142:197, 1958.

8. *Fantl, P.* and *Ward, H. A.* — The thromboplastic component of intact blood platelets is present in masked form. *Australian J. Exper. Biol. Med. Sci.*, 36:449, 1958.

9. *Kment, A.* — Beitrag zur "Plasmagerinnungszeit" der Haustiere. *Wien. Tierärztl. Wchnschr.*, **37**:461, 1950.

10. *Martins, L. F.* — *Contribuição ao estudo do coagulograma do cavalo puro sangue inglês.* Tese de doutoramento, Fac. Med. Veterinária, São Paulo, 1962.

11. *Quick, A. J.* — The prothrombin concentration in the blood of various species. *Amer. J. Physiol.*, **132**:239, 1941.

12. *Sjolin, K. E.* — Lack of Christmas factor in horse plasma. *Nature*, **178**(4525): 153, 1956.

13. *Sjolin, K. E.* — Coagulation defect in horse plasma. *Proc. Soc. exp. Biol.*, **94**: 818, 1957.

14. *Soulier, J. P.* and *Larrieu, M. J.* — Measurements of thromboplastic factors and profactors in plasma. I. Deficits in thromboplastin. Study of reagents, measurements of anti-hemophilic and of platelet activities. *J. Lab. Clin. Med.*, **41**:849, 1953.

15. *Zimmermann* — 1847 — Cit. *Sopeña, I.* — Determinación del número normal de plaquetas sanguineas en algunas espécies domésticas. *Rev. Fac. Agron. B. Aires*, **9**:1947.

CORTICOSTEROID AND ACTH IN EXPERIMENTAL POISONING WITH ANIMAL VENOMS *

G. ROSENFELD and F. G. DE LANGLADA

Laboratory of Hematology, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Corticosteroids or ACTH have been utilized in the treatment of human beings bitten by poisonous snakes. Some authors have attributed beneficial activity to these hormones, while other workers have found not only unsatisfactory results, but also have concluded that these drugs provoke inhibition of the activity of antivenom serum. Russel and Emery (6) made a report on the concerning literature. Schöttler (7) utilized ACTH, cortisone and hydrocortisone in mice, injected simultaneously with DL50 of snake venoms (*Bothrops jararaca* or *Crotalus durissus terrificus*) and did not observe change as concern either mortality or local reaction of the bothropic venom. Doses form 2,5 to 25 mg/kg of adrenocorticotropic hormone (ACTH) and cortisone and 2 mg/kg of hydrocortisone were used. Deichmann and others (2) made experiments with venom of *Crotalus adamanteus* in dogs, having observed the reduction of mortality with injections from 200 to 650 mg of hydrocortisone; the results were more satisfactory when immediate treatment was applied and were still favourable, but not so good when corticoid was injected 4 hours after the venom. Russel and Emery (6) employed methylprednisolone and hydrocortisone in doses from 5 to 500 mg/kg in mice, injecting venom of *Ancistrodon contortrix*, they concluded that, not only there was no protection, but also that the treatment seemed to produce unfavourable results, either due to the venom action or to the suppression of the immunizing mechanism of defense.

As the existing discrepancies were so numerous, both in clinical observations and experimental works, it seemed necessary once more to test the action of corticoids on animals injected with snake, spider and scorpion venoms, associating or not the treatment with specific antivenom serum. The chosen venoms were each diverse from another, so that it would be possible to come to a greater generalization than the referred past works.

---

* This work was supported with a grant from the Research Fund of Instituto Butantan (FPIB).

Received for publication in March 7, 1963.

Material and methods

Venoms of Rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) and Jararaca (*Bothrops jararaca*), extracted by pressing the glands, were utilized. The spider (*Phoneutria fera*) and scorpion (*Tityus serrulatus*) venoms were obtained by electric shock of the preys. All venoms were dried out in the vacuum and kept dry protected from light, they were always a pooling obtained from a large number of animals and the solution was made on the same day they were injected.

Albino mice weighing from 20 to 35 g were used. Venom and corticoids were injected intravenously in the tail or intramuscularly into a thigh in order to have a 3 mm penetration of the injected needle in all cases. They were kept under observation several days and were fed in the usual way. The results here reported concern the animal survival after one or two days, because no modification of greater importance was observed after these periods. For each experiment, on the same day, four groups of mice were used. The first group received only venom and served as control for the second group which was injected with venom and hormone; the third group received venom and specific antivenom serum for controlling the fourth group which was injected with venom, antivenom serum and hormone.

Antivenom sera were specific for each inoculated venom and the ones utilized were of routine production in the Instituto Butantan. These sera are purified by pepsin hydrolysis and precipitation of the antibody-carrying fraction. The injected doses corresponded to one the capacity of in vitro neutralization of the corresponding inoculated doses of venom, and were introduced subcutaneously or intravenously at the same time as the first injection of the hormones.

Zinc ACTH of long action or Dexamethasone-phosphate were used for intramuscular or intravenous injections, with variable doses repeated after 4, 8, 12 or 24 hours. With the greater doses of corticoid, some agitation could be noticed in mice. They also showed polyphagia and a tendency to attack other animals presenting necrosis after the first day (inoculated with bothropic venom).

Results

Table 1 presents the results obtained in experiments done with snake, spider and scorpion venoms and the respective treatment with antivenom serum and ACTH.

Table 2 presents the results obtained in experiments with the same venoms and treatment with antivenom serum and Dexamethasone.

In Table 3 all results of Table 1 were accumulated and the data of each group were compared with each other to analyse the significance of the different treatments. ACTH has significantly diminished the mortality, when spider venom

was injected without serumtherapy, but produced a negative effect increasing the mortality when antivenom serum was given with the same venom. No effect was observed with crotalic, bothropic or scorpionic venom with or without serumtherapy.

In Table 4 all results of Table 2 were reported and analysed in the same manner as in Table 3. Dexamethasone has significantly diminished the mortality when spider and scorpion venoms were inoculated and antivenom was not given, but increased the mortality when crotalic or spider venoms were injected and serumtherapy was given. No effect was seen with crotalic or bothropic venom without serumtherapy and also with bothropic an scorpion venom when antivenom serum was given.

In all experiments the results have shown a very significant protective activity of the specific antivenom sera which were injected 15, 30 or 60 minutes after the venom (Tables 3 and 4).

Discussion

Apparently results are contradictory, but a more careful analysis permits a better understanding. Table 5 summarizes favourable, unfavourable and absence of effects of hormone treatments according to their significance measured by the Chi-square test.

ACTH did not have any significant activity as to mortality in experimental envenomation of mice with venoms of *Crotalus durissus terrificus* and *Bothrops jararaca* associated or not to treatment with specific antivenom serum. These results agree with that of Schöttler (7) who studied the same venoms and with Minton (4) who experimented the venom of *Ancistrodon contortrix* in mice, but neither of them did associate serumtherapy. However, it was not the same for spider venom (*Phoneutria fera*) and scorpion venom (*Tityus serrulatus*). Mortality was significantly diminished by ACTH in animals injected only with the spider venom (*P. fera*) while a markedly unfavourable result was obtained when serumtherapy was associated. The beneficial activity in the first case is possibly due to a favourable action of the hormone on the pain stress caused by this venom which is of great intensity in human cases. In the second case, the negative action could be attributed to an eventual neutralization of the serum effect as it was suggested by Knyvett and Molphy (3) in human cases bitten by snakes having neurotoxic and hemolytic venom, or by Chang and Veinstein (1) in experiments with tetanus toxin and cortisone associated or not to serumtherapy.

On the other hand, in experiments with the scorpion venom (*T. serrulatus*) ACTH had a slight protective action but not significant when not associated to serumtherapy; this venom likewise that one of *P. fera* provokes intense pain, nevertheless there was no negative action of ACTH by its association with serum.

TABLE 1 — MORTALITY OF MICE TREATED WITH VENOMS OF SNAKES, *Crotalus durissus terrificus* (C.d.t.), *Bothrops jararaca* (B.j.), SPIDER *Phoneutria fera* (P.f.) AND SCORPION *Tityus serrulatus* (T.s.), ALONE OR IN ASSOCIATION WITH A CORRESPONDING DOSES OF SPECIFIC ANTIVENOM SERUM AND/OR ACTH. OBSERVATIONS MADE AFTER 48 HOURS

	TREATMENT								RESULTS GROUPS				
Experiment	Venom innoculated			Hormone injected ACTH				Anti-venom serum	1 Venom	2 Venom and ACTH	3 Venom and Antivenom	4 Venom Antivenom and ACTH	
Nº	Speeie	Amount γ/gm	Route	Doses Units	Route	Time after venom min.	Repetition hours	Route	Deaths / Total	Deaths / Total	Deaths / Total	Deaths / Total	
103	C.d.t.	0,2	IV	0,02	IM	30	4	SC	10/20	12/20	7/20	5/20	
106	"	"	"	0,20	"	30	4	"	15/25	16/25	5/25	7/25	
102	"	"	"	2,00	"	60	8	"	10/20	5/20	3/20	9/20	48 h
									35/65	33/65	15/65	21/65	
3	B.j.	10,0	IM	1,00	IM	15	24	IV	14/20	15/20	7/20	3/20	
4	"	"	"	1,00	"	30	"	"	13/20	13/20	0/20	3/20	
1	"	"	"	1,00	"	60	"	"	9/20	14/20	3/20	2/20	
2	"	"	"	1,00	"	90	"	"	19/20	18/20	14/20	17/20	48 h
									55/80	60/80	24/80	25/80	

121	P.f.	1,0	SC	0,2	IM	15	24	SC	18/20	19/20	5/20	14/20	
122	”	”	”	0,2	”	15	8	SC	20/20	18/20	3/20	12/20	
42	”	”	”	2,0	”	15	8	IV	15/20	11/20	2/20	7/20	
41	”	”	”	2,0	”	30	24	IV	18/20	14/20	12/20	14/20	48 h
43	”	”	”	2,0	”	60	24	IV	19/20	16/20	13/20	14/20	
									90/100	78/100	35/100	61/100	
111	T.s.	1,5	SC	0,2	IM	15	8	SC	20/20	16/20	14/20	10/20	
112	”	”	”	0,2	”	15	8	”	17/20	15/20	12/20	8/20	
123	”	”	”	0,2	”	15	8	”	17/20	15/20	6/20	7/20	
124	”	”	”	0,2	”	15	8	”	17/20	14/20	3/20	7/20	
39	”	”	”	2,0	”	15	24	”	18/20	19/20	7/20	3/20	48 h
40	”	”	”	2,0	”	30	24	”	17/20	13/20	3/20	4/20	
38	”	”	”	2,0	”	60	24	”	16/20	18/20	11/20	13/20	
									122/140	110/140	56/140	52/140	

TABLE 2 — MORTALITY OF MICE TREATED WITH VENOMS OF SNAKES, *Crotalus durissus terrificus* (C.d.t.), *Bothrops jararaca* (B.j.), SIPDER *Phoneutria fera* (P.f.) AND SCORPION *Tityus serrulatus* (T.s.), ALONE OR IN ASSOCIATION WITH A CORRESPONDING DOSES OF SPECIFIC ANTIVENOM SERUM, AND/OR DEXAMETHASONE. OBSERVATIONS MADE AFTER 24 HOURS

	TREATMENT								RESULTS GROUPS				
Experiment	Venom innoculated			Hormone injected Dexamethasone				Anti-venom serum	1 Venom	2 Venom and Dexamet.	3 Venom and Antivenom	4 Venom, Antivenom and Dexamet.	
Nº	Species	Amount γ/gm	Route	Doses mg	Route	Time after venom min.	Repetition hours	Route	Deaths / Total	Deaths / Total	Deaths / Total	Deaths / Total	
108	C.d.t.	0,2	IV	0,02	IM	15	8	SC	10/20	10/20	5/20	6/20	
107	"	"	"	0,02	"	15	8	SC	9/20	11/20	4/20	5/20	
101	"	"	"	0,10	"	30	8	SC	14/20	12/20	8/20	7/20	
104	"	"	"	0,002	"	30	8	SC	15/25	21/25	7/25	16/25	24 h
16	"	"	"	0,025	IV	60	12	IV	14/20	15/20	5/20	15/20	
10	"	"	"	0,10	IV	60	12	IV	16/20	15/20	10/20	16/20	
									78/125	84/125	39/125	65/125	
13	B.j.	10,0	IM	0,025	IV	30	12	IV	18/20	19/20	5/20	10/20	
12	"	"	"	0,05	"	"	"	"	15/20	16/20	5/20	0/20	
14	"	"	"	0,05	"	"	"	"	13/20	17/20	1/20	1/20	
11	"	"	"	0,10	"	"	"	"	16/20	17/20	6/20	6/20	
109	"	"	"	0,02	IM	15	8	SC	17/25	14/25	7/25	15/25	
110	"	"	SC	0,02	"	15	"	"	18/25	13/25	5/25	10/25	
99	"	"	"	0,50	"	30	"	"	7/10	3/10	4/10	3/10	24 h

98	”	”	”	0,50	”	30	”	”	3/10	4/10	4/10	4/10	
126	”		”	0,02	”	15	”	”	20/20	17/20	11/20	10/20	
127	”		”	0,02	IV	15	”	IV	20/20	19/20	11/20	13/20	
128	”		”	0,10	IM	15	”	”	15/20	15/20	2/20	12/20	
129	”		”	0,10	”	15	”	”	14/20	17/20	11/20	10/20	
130	”		”	0,10	”	15	”	”	19/20	18/20	11/20	12/20	
									195/250	189/250	83/250	103/250	
113	P.f.	1,0	SC	0,02	IM	15	8	SC	11/20	6/20	6/20	2/20	
114	”	”	”	0,02	”	”	”	”	14/20	6/20	6/20	4/20	
115	”	”	”	0,02	”	”	”	”	10/20	8/20	1/20	3/20	
116	”	”	”	0,02	”	”	”	”	9/20	7/20	3/20	4/20	
117	”	”	”	0,02	”	”	”	”	10/20	9/20	4/20	3/20	48 h
22	”	”	”	0,05	IV	”	12	”	18/20	18/20	1/20	19/20	
18	”	”	”	0,05	IV	30	12	”	6/20	6/20	0/20	11/20	
21	”	”	”	0,05	IV	60	8	”	10/20	6/20	2/20	3/20	
									88/160	66/160	23/160	49/160	
119	T.s.	1,5	SC	0,02	IM	15	8	SC	20/20	16/20	13/20	8/20	
120	”	”	”	”	”	”	”	”	18/20	12/20	2/20	2/20	
118	”	”	”	”	”	”	”	”	17/20	10/20	3/20	5/20	
20	”	”	”	0,05	IV	”	12	IV	19/20	18/20	11/20	15/20	
24	”	”	”	”	”	30	”	”	16/20	12/20	8/20	13/20	
17	”	”	”	”	”	”	”	”	15/20	15/20	14/20	13/20	
19	”	”	”	”	”	60	”	”	16/20	12/20	9/20	13/20	
									121/140	95/140	60/140	69/140	

TABLE 3 — GROUPED DATA OF TABLE 1 WITH MORTALITY FOR EACH VENOM OF ACTH TREATED MICE AND CALCULATIONS OF CHI-SQUARE IN A 2×2 TABLE UNDER THE HYPOTHESIS OF INDEPENDENCE

TREATMENT				Cumulative results	COMPARISON BETWEEN GROUPS		Treatment effect *
Group	Venom	Hormone	Specific antivenom	Death/Total	Groups	—1 degree of freedom P=0,001 P=0,01 P=0,05 10,827 6,635 3,841	
1	*C. durissus terrificus*	—	—	35/65			
2	*C. durissus terrificus*	ACTH	—	33/65	1 with 2	0,123	None
3	*C. durissus terrificus*	—	Serum	15/65	1 with 3	13,000	Effective + + +
4	*C. durissus terrificus*	ACTH	Serum	21/65	3 with 4	1,383	None
1	*B. jararaca*	—	—	55/80			
2	*B. jararaca*	ACTH	—	60/80	1 with 2	0,773	None
3	*B. jararaca*	—	Serum	24/80	1 with 3	24,029	Effective + + +
4	*B. jararaca*	ACTH	Serum	25/80	3 with 4	0,029	None
1	*P. fera*	—	—	90/100			
2	*P. fera*	ACTH	—	78/100	1 with 2	5,357	Effective + +
3	*P. fera*	—	Serum	35/100	1 with 3	64,533	Effective + + +
4	*P. fera*	ACTH	Serum	61/100	3 with 4	13,542	Negative + + +
1	*T. serrulatus*	—	—	122/140			
2	*T. serrulatus*	ACTH	—	110/140	1 with 2	3,621	Effective ±
3	*T. serrulatus*	—	Serum	56/140	1 with 3	67,177	Effective + + +
4	*T. serrulatus*	ACTH	Serum	52/140	3 with 4	0,241	None

* ± = possibly significant (?)
\+ = significant
\+ + = very significant
\+ + + = highly significant

TABLE 4 — GROUPED DATA OF TABLE 2 WITH MORTALITY FOR EACH VENOM OF DEXAMETHASONE TREATED MICE AND CALCULATIONS OF CHI-SQUARE IN A 2 × 2 TABLE UNDER THE HYPOTHESIS OF INDEPENDENCE

TREATMENT				Cumulative results	COMPARISON BETWEEN GROUPS		Treatment effect *
Group	Venom	Hormone	Specific antivenom	Death/Total	Groups	−1 degree of freedom P=0,001 P=0,01 P=0,05 10,827 6,635 3,841	
1	*C. durissus terrificus*	—	—	78/125			
2	*C. durissus terrificus*	Dexamethasone	—	84/125	1 with 2	0,631	None
3	*C. durissus terrificus*	—	Serum	39/125	1 with 3	24,436	Effective + + +
4	*C. durissus terrificus*	Dexamethasone	Serum	65/125	3 with 4	11,301	Negative + + +
1	*B. jararaca*	—	—	195/250			
2	*B. jararaca*	Dexamethasone	—	189/250	1 with 2	0,404	None
3	*B. jararaca*	—	Serum	83/250	1 with 3	101,627	Effective + + +
4	*B. jararaca*	Dexamethasone	Serum	103/250	3 with 4	3,424	Negative ±
1	*P. fera*	—	—	96/160			
2	*P. fera*	Dexamethasone	—	69/160	1 with 2	9,121	Effective + +
3	*P. fera*	—	Serum	27/160	1 with 3	62,875	Effective + + +
4	*P. fera*	Dexamethasone	Serum	52/160	3 with 4	10,505	Negative + +
1	*T. serrulatus*	—	—	121/140			
2	*T. serrulatus*	Dexamethasone	—	95/140	1 with 2	13,692	Effective + + +
3	*T. serrulatus*	—	Serum	60/140	1 with 3	58,144	Effective + + +
4	*T. serrulatus*	Dexamethasone	Serum	69/140	3 with 4	1,164	None

* ± = possibly significant (?)
\+ = significant
\+ + = very significant
\+ + + = highly significant

As for Dexamethasone in doses varying from 0,02 to 0,5 mg per mouse, there was a significant negative action increasing mortality caused by crotalic venom and a slight tendency to this effect with bothropic venom, though there was no activity similar to ACTH when serumtherapy was not done. With spider venom (*P. fera*) and scorpion venom (*T. serrulatus*) Dexamethasone showed a marked protection against these venoms, when serumtherapy was not given, but likewise the ACTH, it had a negative action on the spider envenomation when serumtherapy was associated and no action at all was seen on the scorpion envenomation.

It does not seem that corticoids would aggravate these envenomations by suppressing the mechanism of immunological defense as it has been suggested by Russel and Emery (6), for in none of the venom inoculated groups that have been treated only with hormones the mortality was increased; there was absence of changes or beneficial activity was observed as to spider and scorpion venoms. On the other hand, the negative effect also can not be attributed to a neutralization by corticoids of the antivenom serum effect according to a hypothesis of Knyvett and Molphy (3) since the negative effect was not systematic in the hormone treated groups which have received associated serumtherapy, as can be observed in Table 5.

In cases of spider and scorpion venoms not treated by serumtherapy in which ACTH as well as Dexamethasone diminished mortality, this beneficial effect can be attributed to the decrease of the local pain by the anti-inflammatory action of these hormones. It is known that these venoms have neurotoxins which provoke an intense local pain and this pain stress contributes very much to aggravate the general condition since the mere suppression of pain by other agents withdraws a whole complex of symptoms in man as it was already stated by Rosenfeld et al. (5). The fact that there was no similar action on crotalic and bothropic envenomation can be explained since both venoms do not have pain provoking neurotoxins which act directly on nerves; the one of *Crotalus durissus terrificus* has neurotoxins acting only on the central nervous system without causing any pain and the venom of *Bothrops jararaca* causes local pain by the proteolytic action on tissues at the site of the bite. Summarizing, hormones would not have a direct action on the neurotoxins of spider and scorpion venoms, but they would mitigate the pain provoked by these toxins and would thus remove its consequent stress.

The aggravation of the poisoning by *Phoneutria fera* when the treatment with ACTH or Dexamethasone is associated to serumtherapy could be tentatively explained by assuming that the venom alone would produce a discharge of both hormones and their supplemental administration would come to reenforce this venom action. When serumtherapy is not given, they do not show negative effect since they mitigate the pain stress thus decreasing one of the aggravating components of the poisoning. Together with the antivenom serum which eliminates and diminished pain, hormones would only act through their harmful side synergically with the venom. Envenomation by venom of *Crotalus durissus terrificus* would

TABLE 5 — SCHEMATIC RESULTS OF EFFECTS OF TREATMENT WITH ACTH OR DEXAMETHASONE ASSOCIATED OR NOT WITH SERUMTHERAPY ON THE MORTALITY OF MICE BY THEIR STATISTICAL SIGNIFICANCE AS SHOWN BY THE CHI-SQUARE TEST

SUBSTANCES INJECTED	HORMONE	
	ACTH	Dexamethasone
Crotalus durissus terrificus + hormone	None	None
Crotalus durisus terrificus + antivenom and hormone ..	None	Negative
Bothrops jararaca + hormone	None	None
Bothrops jararaca + antivenom and hormone	None	Possibly favorable
Phoneutria fera + hormone	Favorable	Favorable
Phoneutria fera + antivenom and hormone	Negative	Negative
Tityus serrulatus + hormone	Possibly favorable	Favorable
Tityus serrulatus + antivenom and hormone	None	None

not be aggravated by ACTH administration only by that of Dexamethasone, because this venom would not provoke an ACTH discharge and only of corticoids. These interpretations would lead to assume that venom of *Phoneutria fera* provokes an intensive ACTH and corticoids discharge, while that of *Crotalus durissus terrificus* and *Bothrops jararaca* would only discharge corticoids. The other experimented scorpion venom would not have either one of these actions.

Results show that no generalization is possible as to indication or counter-indication of corticoids in animal venoms poisonings. The table of results is like a mosaic which as the utmost would permit generalization only for similar venoms. Thus ACTH and Dexamethasone are useful and indicated in cases of spider and scorpion envenomations, when the venoms are similar to those of *Phoneutria fera* and *Tityus serrulatus*. They are formally counterindicated in these same cases when specific antivenom serumtherapy is given, Dexamethasone shall be counter-indicated in envenomations by snakes having similar venoms to those of *Crotalus durissus terrificus*, i.e., hemolytic and neurotoxic venoms.

An interpretation of the reasons for these apparently contradictory activities will not only allow a better indication of these hormones, but will also be useful to guide and suggest the physiopathogenic action of these venoms, besides permit-

ting a better understanding of the action and indications of ACTH and corticoids in envenomations.

A secondary observation to the purpose of this paper automatically obtained due to the scheme adopted for experiments is the evidence that serumtherapy with specific antivenom sera, without any auxiliary treatment is really able to diminish mortality provoked by venoms.

Summary

Repeated intramuscular doses of ACTH did not change mortality in mice injected with snake venoms (*Crotalus durissus terrificus* and *Bothrops jararaca*) treated or not with specific antivenom serum. On the other hand, it significantly diminished mortality in animals injected with spider venoms (*Phoneutria fera*) but showing a negative effect on this kind of envenomation when serumtherapy was associated. With scorpion venom (*Tityus serrulatus*) ACTH demonstrated a tendency to protect survival of animals when no serumtherapy was given and absence of any modification when associated to serum.

Repetead intramuscular or intravenous doses of Dexamethasone did not change mortality in mice injected with snake venoms (*Crotalus durissus terrificus* and *Bothrops jararaca*) not treated with serumtherapy. When associated to antivenom serumtherapy, it demonstrated an evident negative effect in the case of crotalic venom and a tendency towards this effect with bothropic venom. With spider venom (*Phoneutria fera*) and scorpion venom (*Tityus serrulatus*) Dexamethasone significantly diminished mortality when serumtherapy was not associated and when it was given, mortality was increased in cases of spider venom and no modifications occur with scorpion venom.

ACTH and corticoid act differently according to the venom also when treatment antivenom serumtherapy is associated.

Complementary, the efficacy of specific antivenom serumtherapy was demonstrated since it significantly diminished mortality in mice injected with venoms of *Crotalus durissus terrificus*, *Bothrops jararaca*, *Phoneutria fera* and *Tityus serrulatus*.

Resumo

O ACTH em doses repetidas injetadas por via intramuscular não modificou a mortalidade de camundongos injetados com venenos de serpentes (*Crotalus durissus terrificus* e *Bothrops jararaca*), tratados ou não com sôro antiveneno específico. Por outro lado, diminuiu significativamente a mortalidade nos animais injetados com venenos de aranha (*Phoneutria fera*), mostrando porém um efeito negativo nêsse envenenamento quando se associou a soroterapia. Com o veneno

de escorpião (*Tityus serrulatus*), demonstrou uma tendência à proteção da sobrevivência dos animais quando não se fêz a soroterapia e ausência de qualquer modificação quando foi dado também o sôro.

A Dexametazona, em doses repetidas injetadas por via intramuscular ou intravenosa, não modificou a mortalidade de camundongos injetados com venenos de serpentes (*Crotalus durissus terrificus* e *Bothrops jararaca*) não tratados pela soroterapia, quando se associou o tratamento pelo sôro antiveneno demonstrou um efeito negativo no caso de veneno crotálico e uma tendência no mesmo sentido com o veneno botrópico. Com os venenos de aranha (*Phoneutria fera*) e de escorpião (*Tityus serrulatus*) a Dexametazona diminuiu significativamente a mortalidade quando não foi feita a soroterapia e quando esta foi aplicada aumentou a mortalidade no caso de veneno de aranha, não tendo produzido modificações com veneno de escorpião.

O ACTH e os corticóides agem diferentemente conforme os tipos de venenos e também quando se associa o tratamento com soros antivenenos. Foi sugerida uma hipótese para explicar essas ações aparentemente contraditórias.

Complementarmente foi demonstrada a eficiência da soroterapia específica que diminuiu significativamente a mortalidade de camundongos injetados com venenos de *Crotalus durissus terrificus, Bothrops jararaca, Phoneutria fera* e *Tityus serrulatus.*

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr. Wolfgang Bücherl for samples of venom of *Phoneutria fera* and *Tityus serrulatus*, to Merck, Sharp & Dohme for the Dexamethasone and to Cia. Farm. Organon do Brasil for the ACTH Zinc used in this work.

REFERENCES

1. *Chang, T. W.* and *Weinstein, L.* — Effect of Cortisone on Treatment of Tetanus with antitoxin. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, **94**:431, 1957.

2. *Deichmann, W. B., Radomski, J. L., Farrel, J. J., MacDonald, W. E.* and *Keplinger, M. L.* — Acute toxicity and treatment of intoxications due to *Crotalus adamanteus* (Rattlesnake venom). *Am. J. Med. Sciences,* **236**:204, 1958.

3. *Knyvett, A. F.* and *Molphy, R.* — Respiratory paralysis due to snake-bite. Report of two cases. *Med. J. Australia,* **2**:481, 1959.

4. *Minton, S. A. Jr.* — Referred by *Russell* and *Emery* (6).

5. *Rosenfeld, G., Nahas, L., Cillo, D. M. de* and *Fleury, C. T.* — Envenenamentos por serpentes, aranhas e escorpiões, in *Prado, F. C., Ramos, J. de A.* and *Valle, J. R. do* — *Atualização Terapêutica*, 5th ed., Livraria Luso-Espanhola e Brasileira, Rio, 1963. pp. 1148-1160.

6. *Russell, F. E.* and *Emery, J. A.* — Effects of corticosteroids on lethality of *Ancistrodon contortrix* venom. *Am. J. Med. Sciences,* **241**:507, 1961.

7. *Schöttler, W. H. A.* — Antihistamine, ACTH, Cortisone, Hydrocortisone and Anesthetic in snake bite. *Am. J. Trop. Med. & Hygiene,* **3**:1083, 1954.

DIFFERENCE BETWEEN LETHAL DOSES OF TOXIC SUBSTANCES INJECTED INTRAVENOUSLY AND INTRA-ARTERIALLY

G. ROSENFELD and F. G. DE LANGLADA *

Laboratory of Hematology, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

According to Braier (1, 2), when a toxic hemolytic substance, such as benzene, is injected intravenously in rabbits, 0,12 ml/kg provoke hemolysis and death of the animal in a few minutes, whereas this dose can be increased five times in intra-arterial injection without producing such manifestations. This diversity in the threshold of the toxic dose is due to the retention of the injected substance in the region served by the artery, even if no interruption of venous efferent circulation is made. This fact can also be observed with chloroform, saponin or non-hemolytic toxics, such as strychnine sulphate, potassium chloride, potassium cyanide and sodic luminal (1, 2).

In this paper, a comparison between these two routes of administration was made, as regards the lethal potency on guinea-pigs of benzene, potassium cyanide and venom of *Bothrops jararaca*.

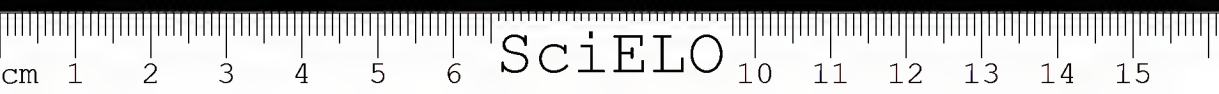
Material and methods

Guinea pigs were used. The animals were anesthetized intraperitoneally with nembutal with doses of 15 mg/kg. Median laparotomy was made and the injections were given in the abdominal aorta or in the distal cava vein. Animals thus treated, but not injected with toxics (controls) survived 48 hours. In the experiments with dogs, injections were given in the femoral vein or femoral artery without anesthetics or skin incision.

The criterion of observation time for death varied according to the drug or the kind of animal that had been used. In guinea pigs injected with benzene, potassium cyanide and snake venom (*Bothrops jararaca*), the observation time was restricted to 30 minutes for the two first mentioned substances, and 60 minutes for the last one; short times were selected because the animals were anesthetized and laparotomized and the action of the drugs with such doses was very rapid. Dogs injected with benzene were observed for 24 hours since they had not been submitted to any traumatic operation.

---

* Fellow of the Research Fund of Instituto Butantan (FPIB).

Received for publication in March 7, 1963.

Results

Intravenously injected benzene killed all guinea pigs from the dose of 0.2 ml/kg or higher, while intra-arterially the same results were observed only with doses 32 times higher, i.e., 6,4 ml/kg (Table 1): in dogs the intravenous doses of 0,2 ml/kg killed 3 animals in 3, 4, and 5 minutes respectively, surviving only one animal: intra-arterially the same dose killed only one animal in 80 minutes, having survived three of them (Table 2). For larger doses, mortality was the same in both kinds of injections, but survival times were markedly longer when doses until 0,8 ml/kg were injected arterially.

Potassium cyanide injected intravenously killed all guinea pigs with doses starting from 10 mg/kg, while the same effect appeared only with 20 mg/kg when injected intra-arterially (Table 1).

Snake venom of *Bothrops jararaca* injected intravenously, started killing all guinea-pigs with 1 mg/kg, whereas only the dose of 4 mg/kg produced the same effect when injected intra-arterially (Table 1).

Discussion

The intra-arterial route has been utilized in chemotherapy as the most direct route for obtaining high concentrations of the therapeutical agent at the tumour site, permitting even the intravenous use of higher doses than usually, as it had been reported by Byron, Singh, Bierman and Kelly (1959). The principle indicated by Braier (1, 2) however, is quite different: he demonstrated that doses not imaginable as possible, could be injected intra-arterially, based on the knowledge of the intravenous toxic dose.

Results reported in this paper completely confirmed Braier's affirmations (1960-1961) that to cause death by toxic substances, much higher doses are required by intra-arterial than by intravenous injections. Probably, the explanation of this fact is the retention or the better absorption of the substance by the tissues of the arterial region, as it was Braier's observation (1960-1961).

The toxic threshold for the arterial route in relation to the venous one, varied with the injected substance, since its absorption must be different for each drug, according to its affinity to the surrounding tissues. This fact shows that identical results cannot be generalized or induced to other substances: an experimental verification for each drug is necessary in order to define the difference between the venous and the arterial toxic dose for each one of them. Only then, the arterial injection of high doses of the most suitable substances for this purpose should be tried.

With this verification, new possibilities for chemotherapy can be foreseen, since it will eventually be possible to inject cytotoxic drugs intra-arterially and regionally

TABLE 1 — GUINEA-PIGS INJECTED INTRAVENOUSLY IN THE DISTAL CAVA VEIN AND INTRAARTERIALLY IN THE ABDOMINAL AORTA. 30 MINUTES OBSERVATION

Route of injection	Benzene in ml/kg of body weight							
	0,05	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2	6,4
Venous	S S S S	S + + +	+ + + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
Arterial	S S	S S	S S	S S	S S	S S S S	S + + +	+ + + +
	Potassium cyanide mg/kg of body weight							
	5	10	20	40				
Venous	S S S S	+ + + +	+ +	+ +				
Arterial	S S	S S S S	+ + + +	+ +				
	Snake venom (*Bothrops jararaca*) mg/kg of body weight — 60 minutes observation							
	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0		
Venous	S S S S	S S S +	+ + + +	+ +	+ +	+ +		
Arterial	S S	S S S S	S S S S	S S S +	+ + + +	+ +		

Each animal: S = survival + = death

TABLE 2 — DOGS INJECTED INTRAVENOUSLY IN THE FEMORAL VEIN AND INTRAARTERIALLY IN THE FEMORAL ARTERY. WITHOUT ANESTHESIA OR SKIN INCISION. 24 HOURS OBSERVATION

Route of injection	Benzene in ml/kg of body weigth					
	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2
Venous	S S	S +(5) +(4) +(3)	+(2) +(2) +(8)	+(1) +(1) +(1)	+(2) +(1)	+(1) +(1)
Arterial	S S	S S S +(80)	+(120) +(240)	+(60) +(280)	+(60) +(6)	+(10) +(2)

Each animal: S = survival + = death, numbers indicate time of death in minutes.

in much higher doses than those utilized now, that would be lethal if injected intravenously. This way, the attainment of sterilizing or total chemotherapy could be possible for cases of localized tumours.

Summary

Anesthetized and laparotomized guinea-pigs were injected intravenously in the distal cava and intra-arterially in the abdominal aorta with several toxic substances. The observation time was 30 minutes for those injected with benzene and potassium cyanide and 60 minutes for those injected with snake venom.

There is a great difference between mortal doses, when a toxic substance is injected intra-arterially or intra-venously. The mortal dose was always greater by intra-arterial injection, and also distinct for each substance. For benzene, it was 0,2 ml/kg intravenously and 6,4 ml/kg intra-arterially. For potassium cyanide, it was 10 mg/kg intravenously and 20 mg/kg intra-arterially, and for snake venom (*Bothrops jararaca*), it was 1 mg/kg intravenously and 4 mg/kg intra-arterially.

Dogs not anesthetized or traumatized by surgery, showed twice more resistance to benzene injected in the femoral artery than in the femoral vein.

Resumo

Cobaias anestesiadas e laparotomizadas foram injetadas por via venosa na cava distal e por via arterial na aorta abdominal com várias substâncias tóxicas. O tempo de observação foi de 30 minutos para as injetadas com benzeno e cianureto de potássio, e de 60 minutos para as injetadas com veneno ofídico.

A dose mortal de benzeno foi de 0,2 ml/kg por via venosa e de 6,4 ml/kg por via arterial. A dose mortal de cianureto de potássio foi de 10 mg/kg por via venosa e 20 mg/kg por via arterial. O veneno de *Bothrops jararaca* foi mortal nas doses de 1 mg/kg por via venosa e 4 mg/kg por via arterial.

Cães não anestesiados nem traumatizados cirùrgicamente, injetados na veia ou na artéria femoral com benzeno, mostraram resistência duas vêzes maior quando injetados por via arterial.

References

1. *Braier, L.* — Inyección Intra-arterial e Inyección Intravenosa de Substancias Hemolíticas en el Conejo. *Semana médica*, **117**:1232, 1960.

2. *Braier, L.* — Injection intraartérielle versus injection intraveineuse de substances hémolytiques chez le lapin. *Arch. Ont. Pharmacodyn.*, **133**:20, 1961.

3. *Byron, R. L., Singh, B. P., Bierman, H. R. & Kelly, K. H.* — Intra-aortic Nitrogen Mustard Therapy in Advanced Pelvic Malignancies. *Surgery*, **45**:634, 1959.

ESTUDO ANÁTOMO-PATOLÓGICO DA EVOLUÇÃO DA NECROSE PRODUZIDA EXPERIMENTALMENTE POR VENENO DE *BOTHROPS JARARACA*. INFLUÊNCIA DE SUBSTÂNCIA ÓRGANO-HEPARINÓIDE *

FERES SALIBA

Secção de Anatomia Patológica, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

O veneno de *Bothrops jararaca* (Wied. 1824) provoca extensas necroses no local da inoculação experimental ou acidental. Amorim, Mello & Saliba (1) descreveram experimentalmente o quadro macro e microscópico do processo em coelhos, demonstrando a existência de extensas sufusões hemorrágicas no hipoderma e musculatura adjacente, necrose de coagulação gangrenosa no ponto de inoculação, um estado de estase e pré-estase, além de capilares contendo trombos hialinos na luz. Descreveram, também, forte edema e hemorragias peri-capilares e sufusões hemorrágicas por confluência, como conseqüência do estado de peri-estase. Relataram também degeneração hialina de Zenker em feixes musculares e ainda hialino-necrose de um pré-capilar. Na parte periférica, descreveram uma larga zona de reação inflamatória exsudativa, caracterizada por intensa infiltração de granulócitos neutrófilos e de linfócitos.

Eichbaum (7), estudando a ação dermatotóxica do mesmo veneno, concluiu que, "a afinidade das dermatotoxinas para com o tecido cutâneo parece ser muito grande, visto que a injeção de doses altas de antitoxina não conseguem neutralizar o veneno injetado poucos minutos antes, no mesmo lugar".

Inúmeros trabalhos clínicos (17. 16, 14, 6, 2, 8, 3, 9, 15, 4, 10 e 11) sôbre o heparinóide de órgãos animais, afirmam sua capacidade de lesar trombos, de reabsorver hematomas e de ter marcada influência sôbre a cicatrização cutânea em vários tipos de lesões.

Degni & Langlada concluiram ter a substância heparinóide influência benéfica sôbre a cicatrização cutânea das áreas necróticas produzidas pelo oleato de monoetanolamina injetado na orelha de coelho com o fim de determinar tromboses localizadas.

* Trabalho realizado com auxílio do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan (FPIB).

Recebido para publicação em maio de 1963.

Nas experiências relatadas neste trabalho, estudou-se anátomo-patològicamente a evolução da necrose produzida em coelhos pela injeção de veneno de *B. jararaca* e verificou-se se o mesmo seria influenciado pela aplicação de anticoagulante de pulmão de vitela (Hirudoid Luitpold-Werk).

Material e métodos

Neste trabalho foram utilizados 32 coelhos machos de 2.5 kg, cujas orelhas tinham sido depiladas manualmente cinco dias antes do experimento. Na face externa da região média de uma orelha de cada animal, injetava-se subcutâneamente 1,5 mg de veneno-padrão de *B. jararaca* (dose mínima mortal para pombos: 2 μg). dissolvidos num volume de 0,15 ml de solução de cloreto de sódio a 8,5 $^0/_{00}$. Seis horas após, cada animal recebia intravenosamente, antitoxina botrópica em dose cinco vêzes superior à necessária para a neutralização do veneno administrado. Os animais foram distribuidos, 48 horas após a administração do veneno, em dois grupos de 16, recebendo cada animal do primeiro grupo uma aplicação local diária de 1,3 g de pomada, contendo em 100 g. 1 g de substância anticoagulante do tecido pulmonar de vitela, durante 7 dias. Os do segundo grupo recebiam idêntico tratamento mas não se administrava a pomada.

No final do experimento todos êles foram sacrificados e as orelhas necrosadas eram fixadas em formol neutro a 10%, incluindo-se em parafina um segmento necrosado, corando-se os cortes resultantes pela hematoxilina-eosina ou. para demonstrar pigmento hemosiderótico, pelo método de Mac Callum Hall.

Resultados

Aspecto macroscópico e desenvolvimento do processo

Tanto nos animais tratados como nos não tratados com a substância heparinóide, 2 horas depois da inoculação havia intenso edema, e flexão da orelha para baixo (Fig. 3A). Concomitantemente, notava-se forte hiperemia e a formação de uma volumosa flictena que se rompia ao cabo de 24 horas. O rompimento da flictena deixava em seu lugar uma área isquêmica de necrose. Em alguns casos observavam-se hemorragias mais ou menos acentuadas, de curta duração, conseqüentes ao rospimento da flictena (Fig. 3A). Os vasos da orelha injetada apresentavam-se dilatados e repletos de sangue, e o edema agora atingia o máximo de seu desenvolvimento. Sôbre a área isquêmica de necrose, formava-se uma placa de fibrina, a qual, à medida que decorriam os dias ia-se transformando numa crosta sêca (Fig. 4C). A necrose, nos casos mais graves, perfura a orelha, comprometendo a cartilagem e o tecido correspondente ao lado oposto (Figs. 2B e 4B). O edema desaparecia gradualmente até que, por fim, nos casos tratados,

êle quase se limitava a uma estreita faixa bem delimitada, que circundava o ponto de inoculação, enquanto que na orelha dos coelhos não tratados, persistia numa faixa maior e mal delimitada. Às vêzes a lesão se ramificava e se desmembrava em dois ou três focos, no máximo, separados, porém próximos.

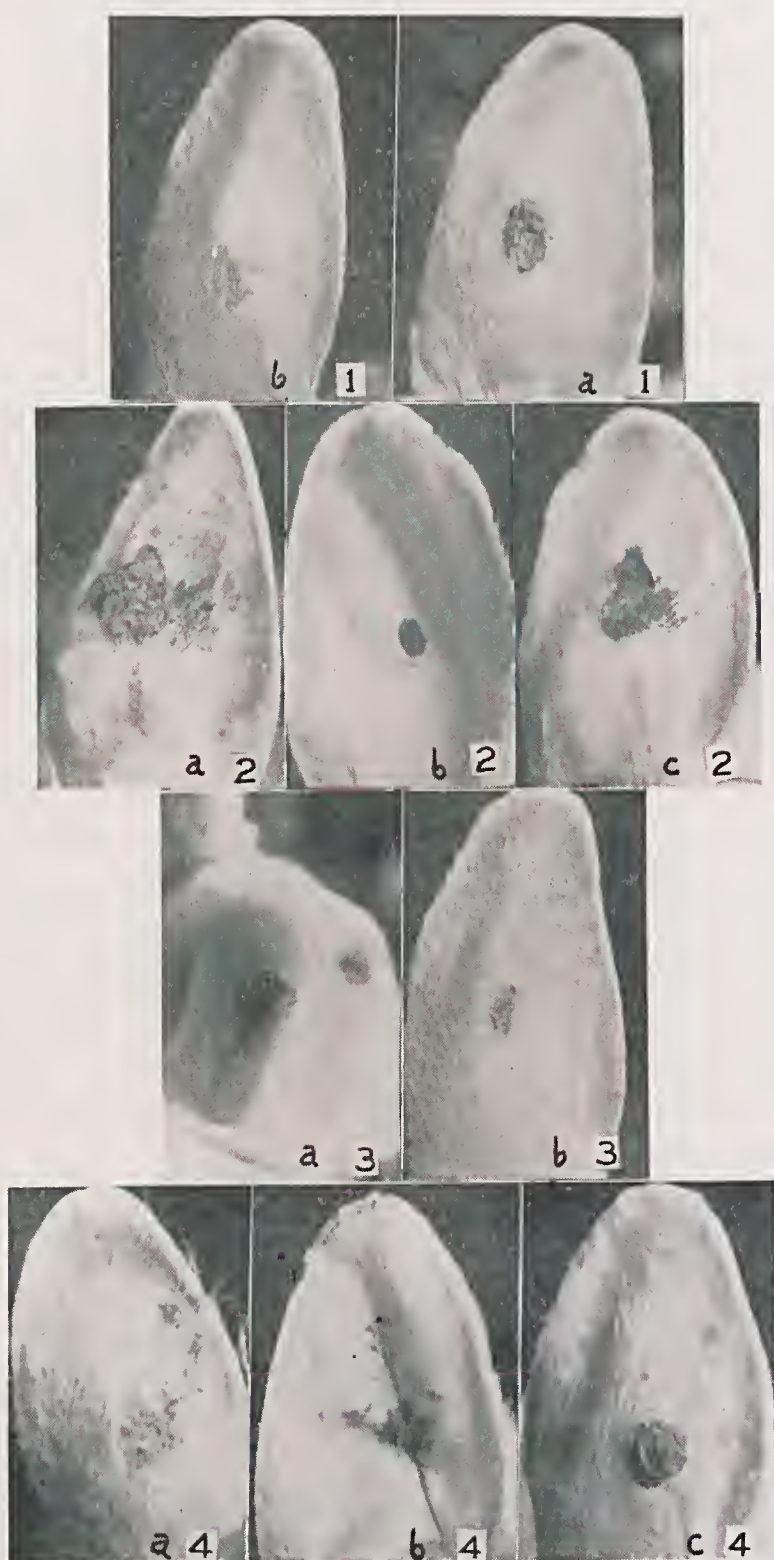
Macroscòpicamente nos casos mais graves (Figs. 2 e 4), havia, sob a crosta sêca, perda de tecido em grau acentuado com massas necróticas e às vêzes um pouco de pus. Nos menos graves a crosta caía ao cabo de 6 a 7 dias e observavam-se nítidos sinais de cicatrização (Figs. 1 e 3).

No início, as alterações desenvolviam-se nos dois grupos de animais, com os aspectos já referidos. Mais tarde, todavia, os tratados apresentavam algumas particularidades favoráveis, como se pode ver na tabela I, caracterizadas por uma evolução mais adiantada de cura em relação aos testemunhas. Na tabela, a intensidade dos processos é expressa de + a +++, sendo que + significa grau moderado, ++ grau evidente e +++ grau intenso, dependendo da extensão da lesão, medida em centímetros.

TABELA I — INFLUÊNCIA DA SUBSTÂNCIA ÓRGANO-HEPARINÓIDE SÔBRE AS LESÕES OBSERVÁVEIS MACROSCÒPICAMENTE

		Início da experiência (2 dias)				Fim da experiência (9 dias)			
		+++	++	+	0	+++	++	+	0
A Não tratados	Necrose	13	2	1	—	8	2	5	1
	Edema	16	—		—	14	2	—	—
	Cicatrização					7	2	7	—
B Tratados	Necrose	12	2	2	—	1	5	8	2
	Edema	16	—	—	—	12	2	2	—
	Cicatrização					12	2	2	—

Coelhos com pêso aproximado de 2,5 kg, injetados subcutâneamente com 1,5 mg de veneno padrão de *B. jararaca*, dissolvido em 0,15 ml de solução de cloreto de sódio a 8,5 ‰ e tratados intravenosamente com antitoxina botrópica 6 horas após. Os animais do grupo *B* recebiam, 48 horas depois, uma aplicação local diária de pomada contendo 1% de substância anticoagulante do tecido pulmonar de vitela, durante 7 dias.

+ grau leve, ++ grau médio, +++ grau intenso, 0 ausência.

Figs. 1 a 4 — Coelhos injetados por via subcutânea na orelha com 1,5 mg de veneno de *B. jararaca*.

Aspectos microscópicos

O exame microscópico, cujas lâminas foram examinadas ao acaso, com o fim de evitar erros subjetivos, revelou, nos dois grupos de animais, nos casos mais graves, o seguinte quadro: Na região da inoculação, havia uma extensa área de necrose de coagulação do tecido, que penetrava profundamente, atingindo a hipoderma, chegando a ultrapassar, em alguns casos, a própria cartilagem, que se apresentava rompida, permitindo que o processo se manifestasse também na face interna da orelha (Fig. 5). Ao redor das massas necróticas, havia regeneração do tecido adjacente, caracterizada por intensa proliferação de tecido de granulação, rico em vasos neoformados, apresentando numerosíssimos granulócitos eosinófilos (Figs. 5 e 6). Havia forte edema, hiperemia intensa e quase sempre hemorragias difusas (Fig. 7), principalmente nas partes superficiais. Nos bordos ocorria proliferação mais ou menos acentuada do epitélio de revestimento, notando-se no tecido conjuntivo subcutâneo, focos inflamatórios de natureza leucolinfocitária esparsos e perivasais. Quando o processo se estabelecia muito próximo de arteríolas, notava-se uma intensa proliferação da adventícia. Na área necrosada, encontravam-se raras vênulas trombosadas com hialinização das paredes, parcial ou inteiramente destruídas.

Nos casos pouco graves, notava-se que a área de necrose era bem menor, melhor demarcada por tecido de granulação e não apresentava as massas necróticas centrais (Fig. 8). O tecido de granulação evidenciava intensa infiltração eosinofílica. Os vasos apresentavam-se com sangue, não havendo, porém, hiperemia acentuada. Havia edema bem circunscrito e pouco acentuado. No seio do tecido notavam-se ainda pequenos focos inflamatórios de natureza leucocitária e alguns perivasais. A reepitelização era bem evidente, chegando por vêzes a um "restitutio ad integrum" (Fig. 9).

Em todos os cortes corados pelo método de Mac Callum Hall, havia deposição de pigmento hemossiderótico em maior ou menor grau, demonstrando ter havido hemorragias também nas adjacências da lesão (Figs. 10 e 11).

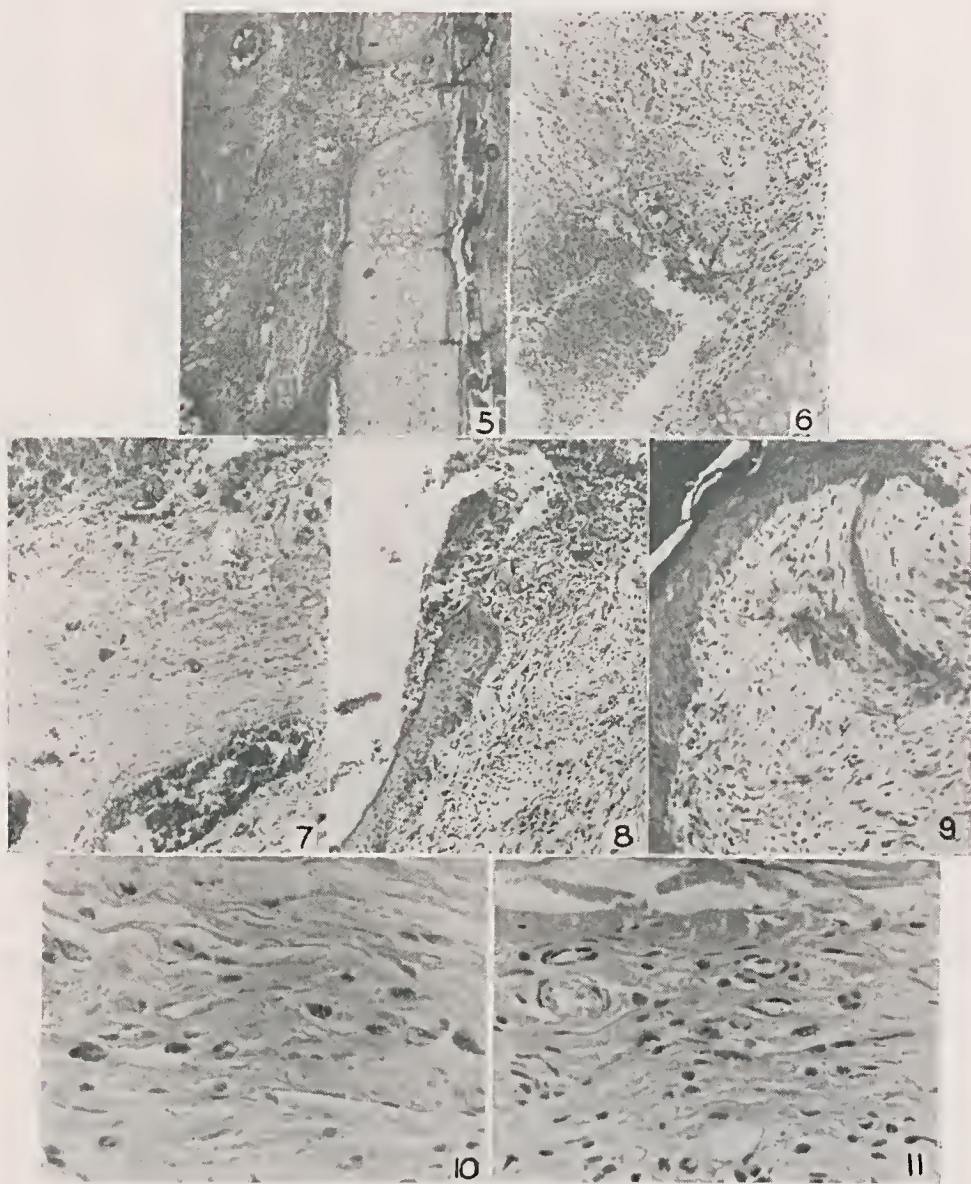
A tabela II mostra a intensidade e a freqüência dos vários componentes das lesões microscópicas mais características no grupo tratado e no grupo testemunha, expressa nos símbolos já convencionados de + a +++. Nota-se particularidades favoráveis aos animais tratados, no que se refere à necrose, edema, hemorragia, hemosiderose, hiperemia, reepitelização e cicatrização, indicando que na altura dos nove dias, nos animais testemunhas, o processo estava em evolução mais atrasada do que nos animais tratados.

Figs. 5 a 11 — Cortes histológicos das orelhas dos coelhos injetados por via subcutânea com 1,5 mg de veneno de *B. jararaca.*

TABELA II — INFLUÊNCIA DA SUBSTÂNCIA ÓRGANO-HEPARINÓIDE SÔBRE AS LESÕES OBSERVÁVEIS MICROSCÒPICAMENTE

	A — Não tratados				*B* — Tratados			
	+++	++	+	0	+++	++	+	0
Necrose	8	1	5	2	4	3	7	2
Edema	13	2	1	—	7	9	—	—
Hemorragia	11	3	—	2	1	1	5	9
Hemossiderose	3	12	1	—	2	11	3	—
Hiperemia	14	1	1	—	4	1	10	1
Reepitelização	4	2	10	—	12	4	—	—
Cicatrização	7	2	7	—	11	4	1	—

Coelhos com pêso aproximado de 2,5 kg, injetados subcutâneamente com 1,5 mg de veneno padrão de *B. jararaca*, dissolvido em 0,15 ml de solução de cloreto de sódio a 8,5 ‰ e tratados intravenosamente com antitoxina botrópica 6 horas após. Os animais do grupo *B* recebiam 48 horas depois, uma aplicação local diária de pomada contendo 1% de substância anticoagulante do tecido pulmonar de vitela, durante 7 dias.

+ grau leve, ++ grau médio, +++ grau intenso, 0 ausência.

As lâminas foram examinadas ao acaso, tendo-se o cuidado de identificá-las sòmente no fim do exame.

Comentários

A análise das tabelas revelou: Necrose; não apresentava, macroscòpicamente, diferenças muito significativas, eis que a ação altamente proteolítica do veneno sempre ocasiona necroses graves. Mesmo assim, nos animais tratados, a necrose mostrava-se ao final menos intensa. Havia 50% de casos graves contra 6,2%, nos casos tratados. Os casos menos graves eram de ordem de 50% nos tratados e de 31,25% nos não tratados. Havia uma certa divergência entre o resultado das observações macro e microscópicas, pois necroses mais profundas não reveladas ao primeiro exame, manifestavam-se evidentes no segundo.

Pelos dados obtidos ao exame microscópico, havia 43,75% de casos leves nos tratados e 31,25% nos não tratados; 25% de casos graves nos tratados, contra 50%, nos não tratados.

Edema — Os dados macro e microscópicos correspondiam-se aproximadamente. Havia uma porcentagem de edema da ordem de 43,75% para os tratados e de 81,25% para os testemunhas.

Hemorragia — Êste é o item mais importante e mais evidente da análise. Existiam em dezesseis animais tratados, onze (68,75%) com pouquíssima ou nenhuma hemorragia, enquanto que nos não tratados existiam sòmente 6,2%. Êstes números indicam que as hemácias extravasadas para os interstícios do tecido, eram absorvidas mais cedo, razão pela qual, quase não se notava hemácias livres nos casos tratados.

Hemosiderose — Quanto à presença de pigmento hemosiderótico nas adjacências da área afetada, notava-se um certo equilíbrio de intensidade em todos os casos examinados, quer tratados ou não. Nos grupos dos animais tratados havia 68,75% de casos moderados (++) e 75% nos não tratados. Estas cifras indicaram uma constância absoluta de hemosiderose, mostrando que nos trinta e dois coelhos, havia hemorragias e hemólise no local da inoculação.

Hiperemia — Nos animais tratados havia 62% de casos onde se manifestava hiperemia moderada, contra 6,2% dos não tratados. Em 87,5% dos casos testemunhas havia hiperemia intensa, ao passo que havia 25% nos tratados. A hiperemia, quando intensa, indicava haver um estágio de evolução mais atrasado, pois a observação demonstrava que nos casos onde a cicatrização era mais avançada, a hiperemia era menos intensa.

Reepitelização — Era mais intensa nos casos tratados, que revelavam 31,25% de reepitelização atrasada, em contraposição a 75% dos não tratados.

Cicatrização — Macroscòpicamente havia 75% de boa cicatrização nos tratados e 43,75% nos testemunhas. A má cicatrização era da ordem de 6,2% para os tratados e 43,75% para os não tratados, havendo correspondência com a observação microscópica.

Resumo

Foram estudadas as lesões macro e microscópicas em 32 coelhos injetados com 1,5 mg de veneno de *B. jararaca* (Wied, 1824), por via subcutânea, na face externa do pavilhão auricular direito, tratados seis horas após, com 5 ml de sôro específico. O primeiro grupo de 16 coelhos foi tratado, 48 horas depois, com

substância órgano-heparinóide sob a forma de pomada dermo-absorvível, durante 7 dias. O lote testemunha não foi submetido ao tratamento da referida substância. A experiência durou 9 dias, ao cabo dos quais todos os coelhos foram sacrificados.

O estudo comparativo, realizado através do quadro macroscópico, revelou edema, hiperemia e necrose, em graus variados, tanto no lote testemunha como no lote tratado com a substância órgano-heparinóide. O quadro microscópico evidenciou necrose de coagulação do tecido afetado, acompanhado de edema, hiperemia, hemorragias difusas, focos inflamatórios esparsos e perivasais, proliferação da adventícia arteriolar, raras tromboses de vênulas com hialinização das paredes. Êste aspecto era acompanhado por processos regenerativos de proliferação de tecido de granulação e por reepitelização. Em todos os cortes havia deposição de pigmento hemosiderótico nas adjacências da lesão.

Nos animais tratados, a necrose teve cicatrização mais avançada, o edema foi menos intenso, a reepitelização mais acentuada, a hiperemia menos intensa e as hemorragias menos freqüentes. Em todos os casos observou-se pigmento hemosiderótico nos cortes, denotando hemorragias na evolução do processo.

Summary

Macro and microscopic lesions were studied in 32 rabbits injected with 1.5 mg of venom of *Bothrops jararaca* (Wied, 1824), subcutaneously, on the external side of the right auricular pavillion, treated after six hours with 5 ml of specific serum. The first group of 16 rabbits was treated 48 hours afterwards with organo-heparinoid substance as a dermo-absorbable ointment for 7 days. The witness lot was not treated with the above mentioned substance. The experiments lasted 9 days, after which, all rabbits were sacrificed.

The comparative study, performed by means of the macroscopic picture revealed oedema, hyperemia and necrosis in different degrees, in the witness lot as well as in the lot treated with the heparinoid substance. The microscopic picture showed coagulation necrosis of the affected tissue, followed by oedema, hyperemia, diffused hemorrhages, dispersed and peri-vasal inflammatory focuses, proliferation of the arteriolar adventitia, seldom thrombosis of the venulae with hyalinization of the walls. The aspect was followed by regenerative processes of proliferation of granulation tissue and reepithelization. In all the sections, we verified the deposition of hemosiderotic pigments in the surroundings of the lesion.

In the animals treated, the necrosis that always existed in all cases had a more advanced cicatrization, the oedema was less intensive, the reepithelization more accented, the hyperemia less intensive and the hemorrhages not so frequent. In all cases, hemosiderotic pigment could be observed in the sections, showing hemorrhages in the evolution of the process.

Bibliografia

1. *Amorim, M. F.; Mello, R. F. & Saliba, F.* — Envenenamento botrópico e crotálico. Contribuição para o estudo experimental comparado das lesões. *Mem. Inst. Butantan,* **23**:63-108, 1951.
2. *Beller, F. K.* — Experimentelle und klinische Untersuchungen des Hirudoid. *Aerztl. Forsch.,* **5**:127-131, 1951.
3. *Brunner, O.* — Der Heparintoleranztest nach Hirudoid Anwendung. *Gynaecologia,* **1**:13, 1954.
4. *Daniel, W. & Somloi, L.* — Fuenf Jahre Thromboembolie Prophylaxe mit Hirudoid. *Wien. Med. Wschr.,* **24**:512-513, 1958.
5. *Degni, M. & Langlada, F. G.* — Ação fibrinolítica de substância heparinóide (L 942) sôbre trombos venosos produzidos experimentalmente. *Rev. Ass. Med. Bras.,* **7**:287-290, 1961.
6. *Dieckmann, G.* — Hirudoid zur Behandlung thrombotischer Prozesse in der Schwangerschaft und im Wochenbett. *Med. Klin.,* **29**:798-799, 1951.
7. *Eichbaum, F. W.* — Ação dermatotóxica de venenos ofídicos e sua neutralização pelos anti-venenosos. *Mem. Inst. Butantan,* **20**:79-94, 1947.
8. *Heimedinger, J.* — Zur Ambulanten Behandlung thrombotischer und lokaler Entzuendungsprozesse sowie von Haematomen und Kontusionen mit Hirudoid-Salbe. *Praxis,* **42**:890-892, 1953.
9. *Holzknecht, F.* — Klinische und experimentelle Erfahrungen mit der Hirudoid-Salbe. *Schweiz. Med. Wschr.,* **8**:254-256, 1954.
10. *Methner, U.* — Erfahrungen mit der Hirudoid-Salbe. *Der Prakt. Tierarzt,* **7**: 1958.
11. *Roesner, J.* — Klinische Erfahrungen mit Hirudoid-Salbe. *Die Medizinische,* **7**:299-301, 1959.
12. *Rosenfeld, G. & Sawaya, P.* — Comunicação pessoal.
13. *Schimert, G. & Struppler, A.* — Ueber perkutane Beeinflussung der Blutgerinnung. *Muench. Med. Wschr.,* **93**:278-283, 1951.
14. *Schmidt, G.* — Ueber die Beeinflussung von Haematomen durch Hirudoid. *Muench. Med. Wschr.,* **101**:2021-2023, 1959.
15. *Schuster, A.* — Kontrolle des Behandlungseffektes bei Ulcus cruris und Thrombophlebitis mittels Infrarot-Photographie. *Med. Klin.,* **23**:982-983, 1956.
16. *Spohn, K. & Peschel, G.* — Kritische Betrachtungen zur perkutanen Beeinflussbarkeit der Blutgerinnung durch Hirudoid. *Der Chirurg,* **11**:481-483, 1951.
17. *Wenning, R.* — Erfahrungen mit Hirudoid. *Muench. Med. Wschr.,* **92**:294-295, 1950.

RICKETTSIEMIA EXPERIMENTAL DA FEBRE MACULOSA DO BRASIL

A. VALLEJO-FREIRE E A. BRUNNER JR.

Serviço de Microscopia Eletrônica, Secção de Virulogia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Introdução

Apesar de constantes tentativas realizadas em esfregaços corados pelos métodos de Giemsa e Macchiavello, a rickettsia da Febre Maculosa do Brasil não foi até o presente momento identificada morfològicamente, quer no sangue de cobaios utilizados para passagem do vírus, quer em experiências de laboratório.

Lemos Monteiro (1) concluiu que o agente infeccioso existe sob a forma granular no meio circulante, representando uma das fases da evolução da rickettsia.

Trabalhando com macacos e cobaios infectados com Febre Maculosa das Montanhas Rochosas, Ricketts (2) descreveu em 1909, em preparações coradas pelo Giemsa, corpúsculos em forma de diplococos e, por vêzes, em formas bacilares. Estas partículas, encontradas com freqüência no sangue dêstes animais, eram menos constantes no sangue dos doentes, onde só puderam ser localizadas mediante a concentração do sôro. Em ovos de *Dermacentor* sp. foram encontradas formações, que mostraram ser específicas em provas de aglutinação com sôro imune de cobaios.

Nicolle, Blanc e Conseil (3) não observaram forma microbiana alguma em sangue de cobaios infectados experimentalmente com Tifo Exantemático Europeu. No sangue de doentes, Rocha Lima (4) encontrou partículas suspeitas apenas em leucócitos, que, quanto à forma, tamanho e afinidade tintorial se assemelhavam à *Rickettsia prowazeki*.

No presente trabalho apresentamos eletromicrografias de sangue de cobaios infectados experimentalmente com Febre Maculosa do Brasil, e analisamos o significado das partículas suspeitas.

Recebido para publicação em fevereiro de 1963.

Material e métodos

Foi utilizado sangue de animais no segundo e terceiro dias do período febril, obtido por punção cardíaca. As provas de esterilidade eram feitas em tioglicolato, caldo simples e Sabouraud. As provas de atividade consistiam na inoculação intraperitoneal de 1 ml de sangue, fazendo-se, no fim do período febril das cobaias de prova, esfregaços peritoneais corados pelo método de Macchiavello.

Titulações — Eram determinadas pelo método de Reed e Muench, as DL_{50}, do sangue íntegro citratado, do sangue hemolisado, obtido por congelamento a −20°C e descongelamento e do plasma obtido por centrifugação a 500 g durante 15 minutos.

Réplicas — Imediatamente após o preparo dos esfregaços de sangue, para exame ao microscópio eletrônico, faziam-se fixações por vapores de ácido ósmico. Decorridos 40 a 60 minutos, os esfregaços eram mergulhados em solução de colódio a 1% em acetato de amila e mantidos em posição inclinada na estufa a 40°C durante 30 a 40 minutos. Em seguida, os filmes eram destacados dos esfregaços por meio de fitas gomadas de 5 mm de largura, aderidas aos mesmos, em posição perpendicular ao comprimento da lâmina. A fita gomada, com uma abertura quadrada de aproximadamente 3 mm de lado, era destacada juntamente com o filme. O filme correspondente à região da abertura era colocado, em posição invertida, sôbre uma grade metálica, prèviamente mergulhada numa solução diluída de goma em éter de petróleo.

Hemólise — A 10 ou 15 ml de água destilada era adicionado 1 ml de sangue. Dez minutos após, adicionava-se 1 ml de solução aquosa de ácido ósmico a 1%, prosseguindo a fixação por 10 a 15 minutos. As hemácias hemolisadas eram lavadas com água destilada, por meio de centrifugações e decantações sucessivas até a obtenção de um sobrenadante incolor. A suspensão de estromas era gotejada sôbre grades metálicas prèviamente cobertas com um filme de colódio e o excesso de líquido da gôta retirado por absorção em papel de filtro.

As preparações eram submetidas ao sombreamento metálico com cromo e examinadas num microscópio eletrônico Siemens ÜM 100b, a 60 KV, com aumentos de ×7200.

Resultados e conclusões

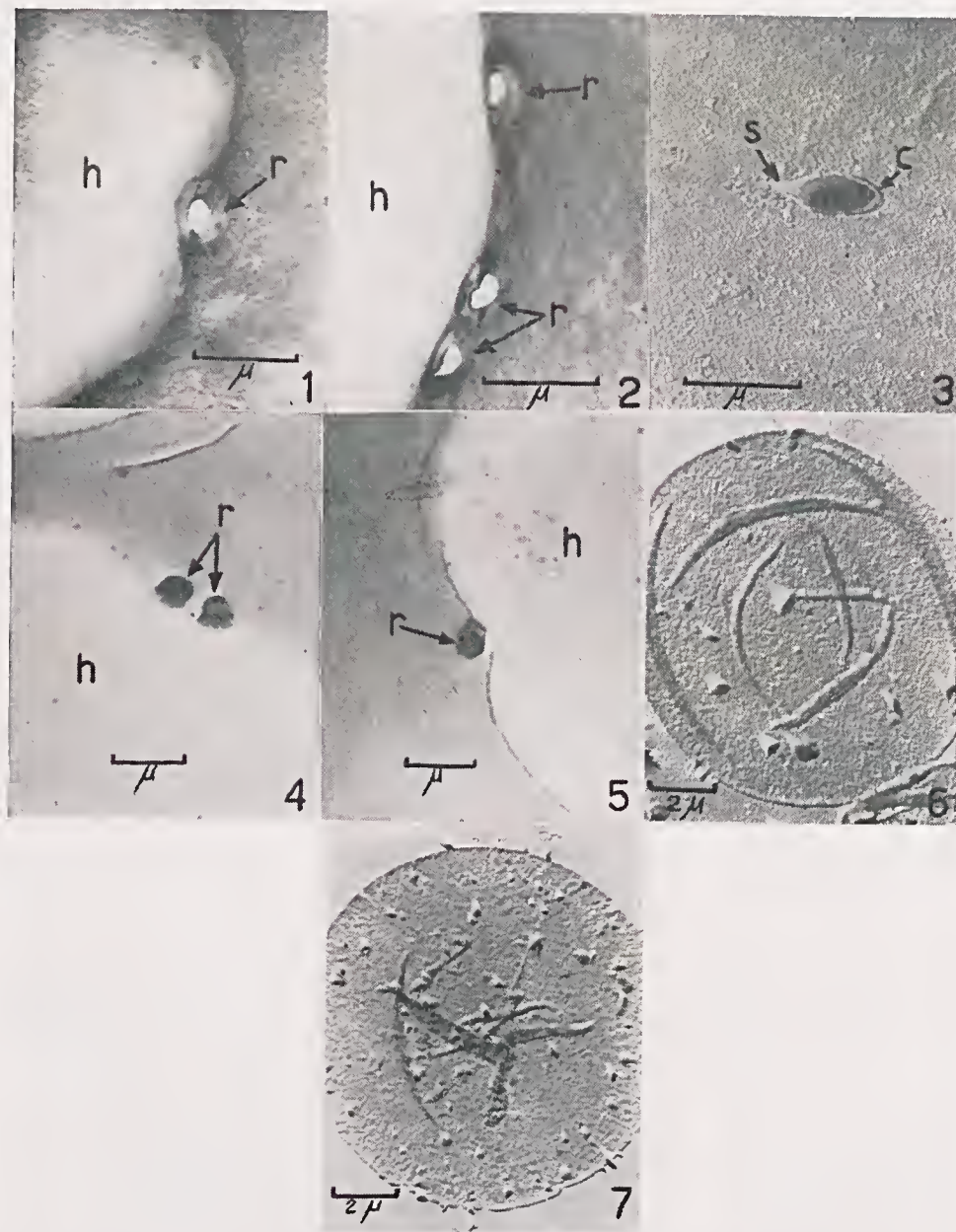
Tôdas as partículas suspeitas observadas dispõem-se nos bordos da hemácia e, com freqüência, numa reentrância, como se o glóbulo vermelho tivesse sido comprimido. Nas figuras 1 e 2 observam-se réplicas de partículas suspeitas, com a região central aparentemente sem colódio. Êste aspecto está em concordância com

Figs. 1 and 2 — Replica of rickettsiae (r) disposed on the borders of the red blood corpuscles (h). The central region of the replica of particles presents a hole corresponding to the height of the rickettsia.

Fig. 3 — Rickettsia from a preparation of hemolysed blood, containing a capsule (c); the long shadow (s) shows the pronounced height of the particle.

Figs. 4 and 5 — Pseudoreplicas containing rickettsiae (r) situated in a concavity on the borders of the red blood corpuscles (h). The shadows are not long because the particles are partially embedded in collodium.

Figs. 6 and 7 — Hemolysed red blood corpuscles with particles, of variable dimensions and constant form, adsorbed on the stromas.

a morfologia da rickettsia, como se verifica na figura 3. O sombreamento metálico indica uma acentuada saliência da região central da partícula, sendo possível que parte do colódio possa ficar aderido nessa região quando o destaque da réplica é feito.

Estas partículas medem no seu eixo maior, de 720 a 620 mμ e no eixo menor, de 540 a 330 mμ. As medidas feitas nas réplicas, não correspondem exatamente às medidas reais da partícula, se se considerar as tensões que sofrem as mesmas, quando destacadas do esfregaço e as devidas ao bombardeio eletrônico, quando são submetidas ao exame.

Nas figuras 4 e 5 verifica-se um aspecto diferente dos anteriores, devido ao fato de terem as partículas se destacado do bordo das hemácias, permanecendo incluídas no colódio. Nêstes casos foram obtidas sòmente as réplicas das hemácias, que mostram também a disposição das partículas em reetrâncias. Estas partículas medem 390×480 mμ.

Formas bacilares, como as que se observam em esfregaços peritoneais e de membrana do saco vitelino corados pelo Macchiavello, nunca foram surpreendidas no sangue de cobaios, mas apenas formas cocoidais isoladas (Figs. 1 e 4) ou próximas, que dariam o aspecto de diplococoidais ao microscópio óptico (Figs. 2 e 5).

As dimensões, a forma, a disposição das partículas em relação à hemácia e o título relativamente baixo do sangue ($DL_{50} = 10^{-2,15}$), são fatôres que podem explicar as dificuldades na observação da rickettsia em esfregaços de sangue ao microscópio óptico.

Suspensões de glóbulos vermelhos hemolisados foram examinadas com o objetivo de concentrar as partículas presentes no sangue, desde que estivessem adsorvidas aos estromas das hemácias. Nas figuras 6 e 7 observam-se estromas nos quais estão adsorvidas partículas de forma constante, porém, de dimensões que variam de 98×146 mμ a 200×630 mμ. O sombreamento metálico triangular, cujo vértice corresponde aproximadamente ao centro das partículas, indica uma saliência nesta região, à semelhança do que se observa nas rickettsias. Estas partículas não apresentam um envoltório ou cápsula visível como a rickettsia da figura 3. Embora não tenham sido observadas em sangue de cobaios normais, não se pode acreditar ainda na sua participação num processo de desenvolvimento que a rickettsia provàvelmente apresenta, levando-se em conta o seu pleomorfismo. Nestas preparações nunca foram observadas formas típicas de rickettsia em estromas de hemácias, mas apenas isoladas. É possível, pois, que além da rickettsia não ser adsorvida pelos estromas, seja também destacada da hemácia durante o processo de hemólise osmótica. A aderência da partícula ao glóbulo vermelho seria mantida sòmente no sangue íntegro. Isto está de acôrdo com observações feitas por Vallejo-Freire (5), de que ocorre um aumento do título no sangue, mantido a baixa temperatura (4°C) para conservação, quando se processa, em decorrência, uma hemólise. Êste fato pode ser explicado por uma distribuição mais

homogênea de rickettsias nas amostras quando duas ou três partículas aderidas a uma hemácia se destacam, considerando-se possível o processo de desencadeamento da infecção por uma única rickettsia. A DL_{50} do sangue hemolisado por congelamento e descongelamento foi de $10^{-2,7}$, o que corrobora as considerações feitas acima.

Resumo

Não tendo sido possível observar ao microscópio óptico o agente etiológico da Febre Maculosa do Brasil na fase circulante, foram feitos exames de esfregaços de sangue pelo método de réplicas. As rickettsias, geralmente granulares, se dispõem nos bordos das hemácias e medem 390×480 mμ.

O baixo título, a forma e dimensões e sua disposição em relação às hemácias são fatôres que dificultam sua observação pelos métodos clássicos.

Summary

It was not possible to observe the etiological agent of the Brazilian Spotted Fever in the circulatory blood at the optic microscope, therefore, blood smears were examined at the electron microscope by the replication method. The generally granular ricettsiae dispose themselves on the borders of the red blood corpuscles and measure about 390×480 mμ.

The low title, form and dimensões and the disposition in relation to the red blood corpuscles, are factors that make the observation by the classical methods difficult.

Bibliografia

1. *Lemos Monteiro, J.* — Tifo Exantemático de São Paulo. IX — "Rickettsioses" e seu conceito pluralista. *Brasil Médico*, **46**:361-362, 1932.

2. *Ricketts, H. T.* — A micro-organism which apparently has a specific relationship to Rocky Mountain Spotted Fever. *J. Am. Med. Assoc.*, **52**(5):379-380, 1909.

3. *Nicolle, C.; Blanc, G.* et *Conseil, E.* — Quelques points de l'étude expérimentelle du Typhus Exanthématique. *C. R. Acad. Sciences*, **159**(19):661-664, 1914.

4. *Rocha Lima, H. da* — Contribuição à etiologia do Tifo Exantemático. *Berl. Klin. Wochschr.*, **53**(21):567-569, 1916.

5. *Vallejo-Freire, A.* — Observações não publicadas.